



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**MALÁRIA: ABORDAGEM DA TERAPÊUTICA ATUAL E DE  
FUTURO. PREVALÊNCIA EM PORTUGAL: ANÁLISE DE CASOS**

Trabalho submetido por  
**Verónica de Matos Fortuna Gamito de Faria**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**Novembro de 2016**



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **MALÁRIA: ABORDAGEM DA TERAPÊUTICA ATUAL E DE FUTURO. PREVALÊNCIA EM PORTUGAL: ANÁLISE DE CASOS**

Trabalho submetido por  
**Verónica de Matos Fortuna Gamito de Faria**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Dr. António Lourenço Cunha Monteiro**

**Novembro de 2016**



## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor António Cunha Monteiro agradeço a sua orientação bem como a simpatia, profissionalismo e sabedoria que me transmitiu na elaboração deste trabalho.

À Doutora Perpétua Gomes, como coordenadora do curso Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, e a todos os professores que contribuíram para a minha formação académica.

Aos meus pais e há minha irmã pela presença e apoio em todos os momentos mais importantes da minha vida e pelos valores que me transmitiram ao longo destes anos.

Às minhas colegas de curso e amigas, Ana, Andreia, Catarina, Marta e Raquel pelo espírito de companheirismo e entreajuda que existiu, e que possibilitou que todos os obstáculos fossem ultrapassados.

Ao João que me apoiou sempre durante todos estes anos e esteve presente quando mais precisei.

Aos meus primos e amigos com quem partilhei experiências e que contribuíram para o sucesso do meu percurso académico.



## Resumo

A malária é uma doença infecciosa causada por parasitas do género *Plasmodium* que são transmitidos ao homem através da picada infetada do mosquito fêmea *Anopheles*. A distribuição desta doença vai depender da interação entre os vetores, os parasitas e o hospedeiro. Nas áreas endémicas desenvolve-se muitas vezes imunidade clínica.

A primeira etapa de tratamento é a quimioprofilaxia com o objetivo de proteger o indivíduo e evitar a infeção. Pelo contrário, caso ocorra infeção parasitária são iniciados os tratamentos com base no tipo de malária. Cada tipo de infeção é determinado pelo estado físico e os sinais e sintomas que são visíveis na pessoa. O tratamento de 1ª linha na malária não complicada é uma combinação de um derivado da artemisinina (ACT). Na malária severa o tratamento mais indicado é a administração de artesunato intravenoso ou intramuscular. É necessário dar especial atenção a alguns grupos de risco, tal como as crianças, grávidas e coinfectados com VIH ou Tuberculose.

Os novos fármacos que estão em ensaios clínicos mostram-se muito promissores para combater muitas resistências dos parasitas aos antimaláricos.

A vacina RTS,S/AS01 encontra-se em estudo, uma vez que apresenta baixa eficácia na proteção da doença. No entanto, estão em curso novas combinações de moléculas para a descoberta da vacina mais eficiente.

As alterações climáticas aliadas à universalização do risco de malária importada de outros países onde é endémica apresentam-se como um fator de risco para a saúde pública. Assim, a vigilância da malária importada em Portugal é fundamental, considerando especialmente casos de subnotificação não quantificada, devido ao aumento das viagens internacionais e o recente aumento da migração para o nosso país.

**Palavras-chave:** Malária, Vetor, Parasitas, Tratamento, Recidivas, Resistências, Novos fármacos Antimaláricos, Vacinas, Prevalência em Portugal

## Abstract

Malaria is an infectious disease caused by parasites of the genus *Plasmodium* that are transmitted to humans through the infected bite of the female *Anopheles* mosquito. The distribution of this disease will depend on the interaction between the vectors, the parasites and the host. Endemic areas often develop clinical immunity.

The first stage of treatment is chemoprophylaxis with the aim of protecting the individual and avoiding infection. On the contrary, in the case of parasitic infection, treatments are based on the type of malaria. Each type of infection is determined by the physical state and the signs and symptoms that are already noticeable in the person. The first line treatment in uncomplicated malaria is a combination of an artemisinin derivative (ACT). In severe malaria the most indicated treatment is the administration of intravenous or intramuscular artesunate. Special attention needs to be given to some risk groups, such as children, pregnant and coinfecting with HIV or Tuberculosis.

The new drugs in clinical trials are very promising to combat many parasite resistance to antimalarials.

The RTS, S/AS01 vaccine is still under study, since it has low efficacy in the protection of the disease. However, new combinations of molecules are underway to discover the most efficient vaccine.

Climate change combined with the universalization of the risk of malaria imported from other countries where it is endemic presents itself as a risk factor for public health. Therefore, surveillance of imported malaria into Portugal is fundamental, especially considering non-quantified underreporting, due to the increase in international travel and the recent increase in migration to our country.

**Keywords:** Malaria, Vector, Parasites, Treatment, Relapses, Resistances, New Antimalarial Drugs, Vaccines, Prevalence in Portugal

## Índice

I.	Introdução.....	13
II.	Malária.....	15
A.	Sinais e Sintomas.....	16
B.	Imunidade Adquirida.....	17
III.	Vetor e Parasitas.....	19
A.	Vetor de Transmissão.....	19
B.	Ciclo de Vida do Parasita.....	20
1.	<i>Plasmodium falciparum</i> .....	22
2.	<i>Plasmodium vivax</i> .....	23
3.	<i>Plasmodium ovale</i> .....	24
4.	<i>Plasmodium malariae</i> .....	25
5.	<i>Plasmodium knowlesi</i> .....	26
IV.	Tipos de Malária.....	27
A.	Malária Não Complicada.....	27
B.	Malária Severa.....	27
C.	Malária Cerebral.....	28
D.	Malária Pediátrica.....	29
E.	Malária na Gravidez.....	30
V.	Diagnóstico.....	31
VI.	Tratamento.....	33
A.	Quimioprofilaxia.....	33
1.	Tratamento preventivo intermitente na gravidez.....	34
2.	Tratamento preventivo intermitente na infância.....	34
B.	Tratamento da Malária Não Complicada.....	34
1.	Tratamento da malária não complicada em grupos de risco.....	37
2.	Tratamento de <i>P. vivax</i> , <i>P. ovale</i> , <i>P. malariae</i> e <i>P. knowlesi</i> não complicados.....	37
C.	Tratamento da Malária Pediátrica.....	38
D.	Tratamento da Malária não complicada na Gravidez.....	38
E.	Tratamento da Malária Severa por <i>P. falciparum</i> .....	39
F.	Tratamento da Malária Severa por <i>P. vivax</i> .....	40
G.	Recidivas.....	40
1.	Recidiva por <i>P. falciparum</i> .....	40



2. Prevenção de recidivas em <i>P. vivax</i> ou <i>P. ovale</i> .....	41
H. Resistências.....	42
I. Novos tratamentos em estudo.....	43
J. Vacinas.....	44
VII. Eliminação.....	47
VIII. Prevalência em Portugal.....	49
1. Análise de Casos.....	51
IX. Conclusão.....	53
X. Bibliografia.....	55

**Índice de Figuras**

Figura 1 - Distribuição geográfica dos vetores mais predominantes de malária.....	19
Figura 2 – Vista dorsal da fase larvar do mosquito <i>Anopheles</i> .....	20
Figura 3 – Ciclo de vida do <i>Plasmodium falciparum</i> e demonstração da transmissão subsequente de um hospedeiro humano para outro.....	21
Figura 4 - As seis principais causas de morte em crianças com idade inferior a 5 anos em África, entre 2000 e 2015.....	29

**Índice de Tabelas**

Tabela 1 - Resumo das combinações de fármacos ACT.....	36
Tabela 2 – Resumo dos fármacos injetáveis usados na malária severa.....	40

**Lista de Abreviaturas**

OMS – Organização Mundial de Saúde

GTS - Global technical strategy

GPI - Glicosilfosfatidilinositol

ACT - Artemisinin Combination Treatments

SERCaP - Single Encounter Radical Cure and Prophylaxis

DDO - Sistema de Vigilância de Doenças Transmissíveis de Declaração Obrigatória

ITNs - Insecticide-treated mosquito nets

IRS - Indoor residual spraying

IPTp - Intermittent preventive treatment in pregnancy

IPTi - Intermittent preventive treatment in infancy

GVCR - Global Vector Control Response

EIR - Entomological inoculation rate

PfEMP1 - Polymorphic *P. falciparum* erythrocyte membrane protein 1

SDRA –Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo

Potra – Tryptophan – rich antigen

BCS - Blantyre Coma Scale

DCA - Delayed cerebellar ataxia

EBV - Epstein-Barr vírus

RDT - Rapid diagnostic test

SP – Sulfadoxina-Pirimetamina

AL -Arteméter + Lumefantrina

WWARN - Worldwide Antimalarial Resistance Network

G6PD - Glicose-6-fosfato desidrogenase

PfRH5 - Plasmodium falciparum reticulocyte-binding protein homolog 5



## I. Introdução

A malária é uma doença infecciosa causada por parasitas protozoários do género *Plasmodium* (*P.falciparum*, *P.vivax*, *P.ovale*, *P.malariae*, *P.Knowlesi*) que são transmitidos ao homem através da picada infetada do mosquito fêmea *Anopheles*, o principal vetor. (Mischlinger, Agnandji, & Ramharther, 2016) É um problema de saúde pública que provoca a morte prematura em cerca de 110 países de África, Ásia e América Latina. (Assefa, Eshetu, & Biruksew, 2015) Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 3,3 milhões de pessoas em todo o mundo estão em risco de ficarem infetados com malária, sendo a população mais ameaçada a que vive na África subsariana. (Renar, Iskra, & Križaj, 2016) Esta doença é simultaneamente uma causa e uma consequência dos países subdesenvolvidos, em união com o ambiente físico e social. (Tusting, Willey, & Lines, 2016) A dinâmica e a distribuição da mesma dependem da interação entre os vetores, os parasitas e o ambiente. (Murdock, Sternberg, & Thomas, 2016) Assim, pequenas mudanças na temperatura ambiental podem conduzir a um aumento do risco de transmissão. Nas comunidades que residem em regiões de alta transmissão as crianças são as que sofrem maior morbilidade, atingindo cerca de 1 milhão de mortes pediátricas por ano. (Sundararajan et al., 2015) As mulheres grávidas constituem outra população vulnerável e verifica-se o aumento do risco de aborto, nados mortos e baixo peso à nascença. (Tarning, 2016)

Nas áreas endémicas a maioria das infeções não conduz a doença sintomática devido ao desenvolvimento de imunidade clínica. A imunidade surge como resultado da exposição repetida, protegendo inicialmente o indivíduo contra as formas graves da doença, e em seguida contra a forma sintomática. Contudo, a proteção contra a doença é acompanhada por um aumento na prevalência de parasitemia assintomática, uma vez que os indivíduos assintomáticos são menos propensos a receber tratamento. (Kamya et al., 2015)

A primeira etapa de tratamento da malária é a terapêutica profilática, com o objetivo de proteger o indivíduo. A quimioprofilaxia está destinada a pessoas com uma curta exposição temporal em áreas endémicas, tais como os turistas. No entanto, também existe quimioprofilaxia de longa duração para as pessoas que vivem em áreas endémicas, mas a adesão à mesma é muito reduzida quando a duração do tratamento é superior a 3 meses. (Hahn & Pottinger, 2016)

Em 2001, a OMS indicou a terapia combinada à base de artemisinina (ACT) como tratamento de primeira linha para a malária não complicada. (Yakasai et al., 2015) Em 2015 foram registados 214 milhões de casos clínicos e 438.000 mil mortes por malária, sobretudo em crianças com menos de 5 anos de idade. A vacina contra a malária RTS, S/AS01 foi testada em crianças num ensaio clínico de fase III e demonstrou eficácia de 18 a 36% contra a malária clínica, mas não reduz a mortalidade global. (Klein, Shann, Moss, Benn, & Aaby, 2016)

Inicialmente, os antimaláricos foram introduzidos em esquemas de monoterapia e as doses utilizadas eram muito baixas o que conduziu ao surgimento de resistências. (White, 2016) Contudo, este problema ainda não foi ultrapassado visto que, atualmente, os parasitas do género *Plasmodium* criaram novas resistências a alguns dos fármacos, bem como os vetores aos inseticidas piretróides, dificultando o controlo da doença. (Assefa et al., 2015) Neste contexto, os investigadores estão à procura de novos alvos para o desenvolvimento de fármacos antimaláricos mais específicos. O objetivo principal é a descoberta de um tratamento que correlacione a profilaxia com a cura o SERCaP (Single Encounter Radical Cure and Prophylaxis) em administrações de uma dose. (White, 2016)

Em Portugal, a erradicação da malária foi confirmada pela OMS em 1973. (Bruce-Chwatt & De Zumeta, 1977) No entanto, está incluída no Sistema de Vigilância de Doenças Transmissíveis de Declaração Obrigatória (DDO), o qual deve incluir o estudo do comportamento dos viajantes, de forma a melhorar a qualidade das medidas preventivas e curativas a adotar em relação à doença. (Castro, Cardoso, Queirós, & Gonçalves, 2003) Estas medidas incluem a preparação de cuidados de saúde pré e pós viagem, bem como a consciência do risco de ressurgimento da doença através de malária importada. A notificação em Portugal está desde 2014 a evoluir no sentido de um sistema de comunicação eletrónico. (Fonseca, Simões Dias, Baptista, & Torgal, 2016)

A finalidade desta dissertação é caracterizar quais as principais terapêuticas atuais e de futuro no tratamento da malária, bem como esclarecer a prevalência desta doença em Portugal, através da análise de alguns casos clínicos. Assim, os principais objetivos são: caracterizar os vetores responsáveis pela transmissão da doença; definir os diferentes tipos de malária; evidenciar os métodos de diagnóstico mais relevantes; distinguir as etapas de tratamento e qual a terapêutica mais adequada; projetar o futuro potencial da vacinação contra a malária; e analisar a prevalência da doença em Portugal, pela importação de outros países.

## II. Malária

Em 2015 a OMS criou o programa GTS (Global Technical Strategy) 2016-2030 com uma visão focada num mundo sem malária. Os objetivos principais são reduzir a incidência e mortalidade em mais de 90% até 2030 e eliminar a doença em, pelo menos, 20 países endémicos e evitar o ressurgimento em todos os Estados-membros que sejam livres de malária. As ações prioritárias do GTS são definidas por três pilares e dois elementos de apoio, entre eles: assegurar o acesso universal à prevenção, diagnóstico e tratamento, aumentar os esforços na eliminação da doença, transformar a vigilância da malária numa intervenção central em áreas de baixa e alta transmissão e reforçar a investigação e um ambiente favorável, respetivamente. (World Health Organization, 2016)

Existem técnicas de prevenção da transmissão da doença, das quais se destacam: o controlo dos vetores do mosquito através do uso de mosquiteiros tratados com inseticida (ITNs) e pulverização residual do interior das casas (IRS), quimioprevenção para mulheres grávidas e crianças em áreas com malária sazonal e testes de diagnóstico e tratamento para os casos positivos de malária. Os dados relativos a 2014 indicam que cerca de 269 milhões de pessoas que viviam em zonas de grande transmissão não tinham ITNs ou IRS, 15 milhões de grávidas em risco não receberam uma dose de tratamento intermitente preventivo (IPTp) e 80 milhões de crianças com malária não foram tratadas com ACT. (Cibulskis et al., 2016) Com base nisto é extremamente importante a implementação das medidas definidas pela OMS para os próximos anos com vista a diminuir a mortalidade desta doença nos países mais afetados. Para tal, é imprescindível a participação de todos os ramos do governo, não apenas o Ministério da Saúde, vinculado a planos de desenvolvimento económico para controlo da malária nesses países. Contudo, muitas vezes grande parte deste financiamento é gasto na forma de bens e não a corrigir as deficiências fundamentais nos sistemas de saúde. Assim, serão necessárias outras medidas adicionais, tais como uma abordagem nas comunidades onde há muita afluência de contaminação, com o objetivo de garantir acesso a todas as intervenções contra a malária e envolver fornecedores do sector privado. (Tusting et al., 2016)

Os vários desafios que continuam a dificultar o controlo e eliminação desta doença incluem os fracos sistemas de saúde, lacunas nas intervenções disponíveis, baixo investimento per capita, bem como a ameaça da resistência aos medicamentos e inseticidas. (World Health Organization, 2016)



## A. Sinais e Sintomas

A sintomatologia geralmente surge algumas semanas após a infeção e é correspondente com a fase sanguínea assexuada do parasita. (Gomes, Bhardwaj, Rivera-Correa, Freire-De-Lima, & Morrot, 2016) O período de incubação pode variar, tendo em conta os fatores do hospedeiro e as espécies causadoras. Os sintomas típicos incluem: o paroxismo de febre, calafrios e suores (48 a 72h), dor de cabeça, artralgia, mialgia, tosse e fadiga. Os menos frequentes são diarreia, náuseas, vômitos, anorexia e letargia. (Walk et al., 2016) Em geral, os doentes com infeção por *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. ovale* têm paroxismos febris a cada 48 horas (febre terçã) e os infetados por *P. malariae* têm paroxismos a cada 72 horas (febre quartã). Os sintomas mais característicos são confundíveis com os que surgem num estado gripal, e como tal, torna-se difícil detetá-los como sinais de malária. No entanto, nesta fase inicial da progressão da doença, sem evidência de disfunção de órgãos vitais, é espectável uma recuperação completa rápida, desde que seja fornecido um tratamento imediato e eficaz. (World Health Organization, 2015)

O número de sintomas de malária é o resultado da multiplicação do parasita e da resposta imune. (Nacher, 2005) Estes sintomas resultam de uma resposta inflamatória excessiva induzida por toxinas libertadas para a corrente sanguínea do hospedeiro. Estas toxinas são hemozoína e glicosilfosfatidilinositol (GPI). A hemozoína é um subproduto do metabolismo do parasita que é libertado na corrente sanguínea após lise eritrocítica, sofre fagocitose e persiste por longos períodos de tempo. O GPI fixa proteínas da superfície celular ao *Plasmodium* ou pode ocorrer como uma molécula livre. (Renar et al., 2016)

As manifestações clínicas derivadas de malária severa, na maioria dos casos provocadas pelo *P. falciparum*, se não forem tratadas dentro de 24h, podem evoluir para uma doença grave e muitas vezes serem fatais. Como exemplos destacam-se: prostração, vômito persistente, dificuldade respiratória, hipoglicémia, hiperpirexia, hemoglobinúria, descoloração da urina, hipotensão, anemia grave e coma (malária cerebral). (Demissie & Ketema, 2016) As crianças com malária severa desenvolvem frequentemente um ou mais dos seguintes sintomas: anemia grave, dificuldade respiratória em relação à acidose metabólica ou malária cerebral. Nos adultos, o envolvimento de múltiplos órgãos também é frequente. Em áreas endémicas de malária, as pessoas podem desenvolver imunidade parcial, permitindo a ocorrência de infeções assintomáticas. (World Health Organization, 2015)

## **B. Imunidade Adquirida**

Os indivíduos que estão continuamente expostos à infecção da malária em regiões endêmicas podem desenvolver imunidade clínica, que os protege de complicações graves da doença e até mesmo da morte. A imunidade parcial à doença clínica desenvolve-se maioritariamente na infância, e assim, o risco de desenvolver malária severa é menor. No entanto, uma imunidade estéril sem risco de apresentar algum quadro clínico, infelizmente não se consegue alcançar. (Arévalo-Herrera et al., 2016)

A característica marcante da resistência imune à malária deve-se ao facto de esta se desenvolver após alguns anos de exposição, em áreas endémicas, onde as crianças são expostas a centenas de picadas de mosquito todos os anos. Nas áreas de transmissão intensa, as crianças tornam-se resistentes às formas mais graves de malária aos cinco anos de idade, no entanto, permanecem suscetíveis a episódios não complicados de malária febril até ao final da infância ou início da adolescência. Assim, a aquisição de imunidade para a malária em humanos é complexa, envolvendo três formas de resistência: a que é precoce à doença grave, em seguida à doença sem complicações, e em situações mais raras, à própria infecção. (Crompton et al., 2014)

O padrão de imunidade adquirida é semelhante em toda a região na África subsariana, onde a transmissão da malária é intensa somente durante três a quatro meses na estação chuvosa e relativamente baixa nas restantes. Em áreas de transmissão instável, como na Ásia e América Latina e nas restantes partes do mundo onde a malária é endémica, a intensidade da transmissão flutua amplamente por cada estação do ano. A imunidade pode ser gradualmente perdida, pelo menos parcialmente, quando os indivíduos se deslocam para fora das áreas mais endémicas por longos períodos de tempo. Por outro lado, os viajantes não imunes que visitem uma destas áreas de grande transmissão têm um risco particularmente elevado de contrair malária severa, se a infecção não for detetada prontamente e tratada de forma eficaz. (World Health Organization, 2015)

Os mecanismos imunitários de proteção contra a malária são extensivamente estudados, mas ainda não estão completamente definidos. No entanto, muitos estudos apontam para o papel crucial dos linfócitos T (CD4 e CD8) na proteção contra as fases do ciclo do parasita no fígado e nos gametócitos aquando do início do ciclo sexuado no mosquito, quer como mediadores diretos de proteção quer como amplificadores da imunidade humoral. (Van Braeckel-Budimir, Kurup, & Harty, 2016)



### III. Vetor e Parasitas

#### A. Vetor de transmissão

A transmissão da malária é sazonal geralmente proveniente da maior precipitação entre Setembro e Novembro. (Kenea et al., 2016) A malária é transmitida ao Homem através da picada de mosquitos fêmea do género *Anopheles*. São conhecidas cerca de 465 espécies de mosquitos deste género, em todo o mundo, mas apenas 41 são passíveis de transmitir malária a Humanos, exemplificados na figura 1. (Rossati et al., 2016)

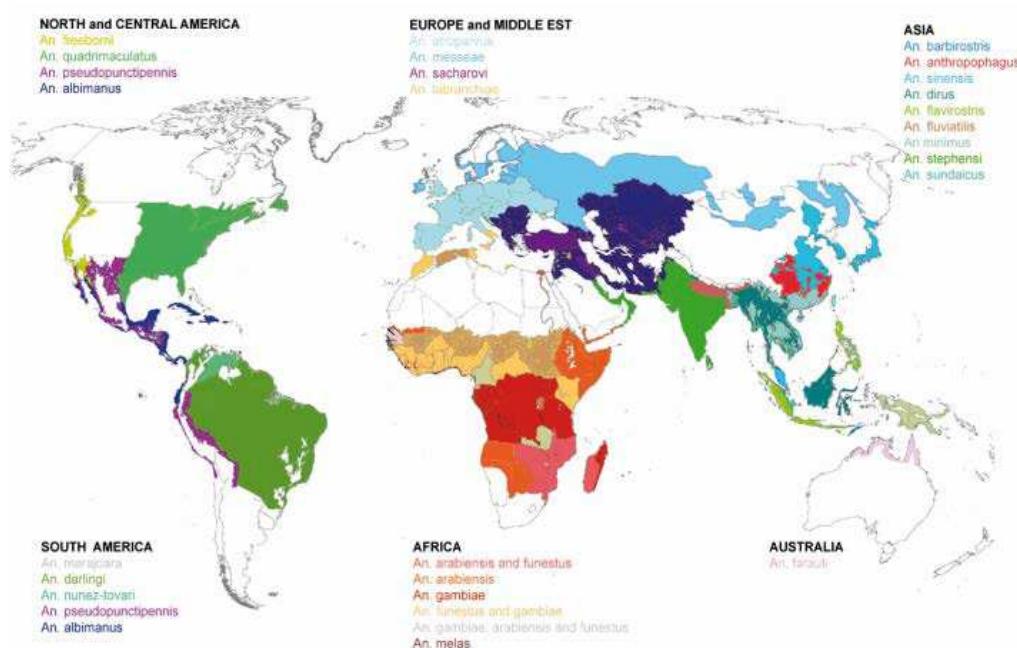


Figura 1 – Distribuição geográfica dos vetores mais predominantes de malária. Retirado de Rossati et al., 2016

Os dois primeiros e mais eficientes vetores de malária em África são *Anopheles gambiae* e *Anopheles funestus*. O êxito do desenvolvimento do parasita da malária no mosquito a partir da fase gametócito para a de esporozoítos depende de vários fatores. O mais importante é a temperatura, dado que temperaturas elevadas aceleram o crescimento do parasita no mosquito, e a humidade. O tempo que o *Anopheles* sobrevive e que permite que o parasita complete o seu ciclo de 10 a 18 dias no hospedeiro também é significativo. (Centre for Disease Control, 2015) O mosquito *Anopheles* pica principalmente durante a noite, portanto é importante criarem-se algumas barreiras estruturais, de forma a diminuir a exposição humana, tais como portas e janelas com rede-mosquiteira e tetos com proteção. (Tusting et al., 2016) A exposição aos parasitas da malária é tipicamente estimada pela taxa de inoculação entomológica (EIR) que é uma estimativa do número de picadas infecciosas por pessoa, por unidade de tempo, normalmente num período de transmissão ou num ano. (Kamya et al., 2015)

## B. Ciclo de vida do parasita

A malária é uma infecção causada por uma destas cinco espécies de parasitas do género *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* e *P. knowlesi*. O ciclo de vida destes parasitas é complexo envolvendo dois hospedeiros: o vetor e o Homem. No mosquito ocorre o ciclo sexuado, e este é considerado o hospedeiro definitivo, no Homem dá-se o ciclo assexuado, sendo o hospedeiro intermediário. (Hahn & Pottinger, 2016) As cinco espécies de *Plasmodium* apresentam ciclos de vida idênticos, diferindo apenas em alguns pontos, que serão referidos posteriormente.

A espécie *Anopheles*, como todos os mosquitos, apresenta quatro fases do seu ciclo de vida: ovo, larva, pupa e adulto. É na fase adulta que o mosquito fêmea atua como vetor da malária. (Centre for Disease Control, 2015)

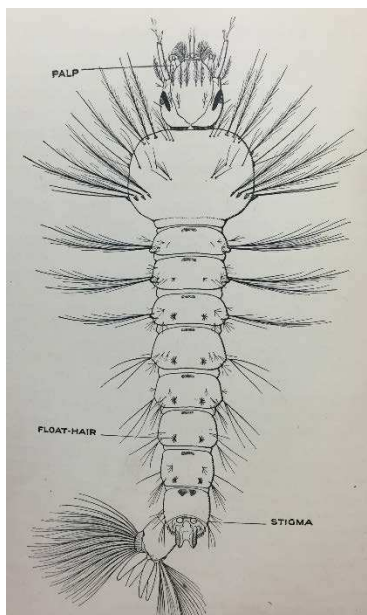


Figura 2 – Vista dorsal da fase larvar do mosquito *Anopheles*. Retirado de Malcom & Macgregor, 1927

A infecção inicia-se com a picada do mosquito fêmea no humano, a qual vai desencadear o começo do ciclo assexuado. O mosquito injeta os esporozoítos, entre 100 a 200 por picada, presentes nas suas glândulas salivares, e estes são transportados na corrente sanguínea até ao fígado onde vão invadir os hepatócitos. (Gomes et al., 2016) Aqui ocorre a fase hepática do ciclo, na qual se formam esquizontes pré ou exoeritrocíticos, através de reprodução assexuada, vão dar origem a milhares de merozoítos. Quando há rutura de células hepáticas os merozoítos são libertados na corrente sanguínea e invadem os eritrócitos. Nesta fase eritrocítica, o parasita utiliza os recursos do eritrócito para aumentar de tamanho, originando o trofozoíto. A maturação do trofozoíto culmina com a divisão nuclear e formação do esquizonte.

Posteriormente, a rutura do esquizonte maduro conduz à libertação dos merozoítos na corrente sanguínea, capazes de infetar novos eritrócitos, dando origem a um novo ciclo eritrocítico. Ainda nesta fase, os merozoitos infetam os glóbulos vermelhos e desenvolvem-se em gametócitos masculinos e femininos. (Srinivasan, Mohamed, Zakaria, & Ahmad, 2012) Quando o mosquito fêmea ingere os gametócitos do *Plasmodium* durante a refeição de sangue, estes invadem o intestino e diferenciam-se em gâmetas (macrogâmetas e microgâmetas), iniciando deste modo o ciclo sexuado do mosquito. Os microgâmetas são formados a partir de um processo denominado de exflagelação. Estes possuem um flagelo que lhes permite fertilizar o macrogâmeta, dando origem ao zigoto. O zigoto desenvolve-se numa forma móvel, o oocineto que, por sua vez, migra para o intestino do mosquito e diferencia-se em oocisto. Após divisão meiótica são formados esporozoítos que migram para as glândulas salivares do mosquito, prontos para uma nova transmissão em seres humanos. (Yamamoto, Sumitani, Kasashima,

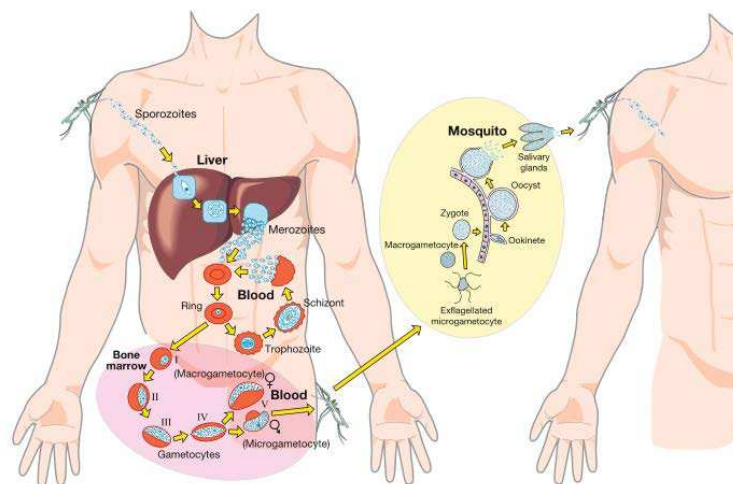


Figura 3 – Ciclo de vida do *Plasmodium falciparum* e demonstração da transmissão subsequente de um hospedeiro humano para outro. Retirado de Karunajeewa & Mueller, 2016

Sezutsu, & Matsuoka, 2016)

A fase eritrocítica do ciclo é a responsável pela patologia associada à malária. O paroxismo de febre observado nos doentes com malária pode aumentar a atratividade do hospedeiro para o mosquito, através do aumento da temperatura cutânea. (Nacher, 2005) Estes períodos intermitentes de febre correspondem à lise dos eritrócitos infetados. Assim, a principal diferença entre as espécies de *Plasmodium* reside na duração do ciclo eritrocítico e correspondente periodicidade da febre: no *P. malarie* é de 72 horas e nas restantes espécies 48 horas. No entanto, a infeção por *P. falciparum* pode apresentar períodos contínuos de febre em vez dos picos característicos de malária. (Gomes et al., 2016)

## 1. *Plasmodium falciparum*

Globalmente, o continente africano é o mais afetado, com 88% de episódios de malária em todo o mundo e cerca de 90% de mortalidade. O Uganda é o país que apresenta maior incidência e o principal responsável pela elevada mortalidade é o parasita *Plasmodium falciparum*. (Mischlinger et al., 2016) A estratificação do risco de transmissão noutros locais, como por exemplo, no continente asiático, é mais simples. Embora nas zonas de transmissão alta ou intermédia sejam necessárias medidas de controlo adequadas, a grande maioria do continente apresenta uma endemicidade estável. (Gething et al., 2011)

Foi realizado um estudo entre Junho de 2012 e Março de 2013 em quatro centros de saúde de cuidados primários na cidade de Accra, capital do Gana, em 150 crianças com menos de 12 anos de idade, para analisar os dados hematológicos após infeção pelo *P. falciparum*. As alterações hematológicas foram comuns em crianças infetadas, tais como, redução significativa da concentração de hemoglobina, da contagem de neutrófilos e linfócitos e anemia. Estas foram mais pronunciadas em casos de malária severa, provavelmente devido aos níveis elevados de densidade parasitária. (Squire et al., 2016)

A infeção provocada por *P. falciparum* pode evoluir rapidamente para malária cerebral, anemia grave, acidose, icterícia, lesão renal aguda, síndrome de dificuldade respiratória aguda, edema pulmonar e coagulação intravascular disseminada. (Mohamed, Boushab, Fall-Malick, Savadogo, & Basco, 2016) Em muitos casos é necessário fazer uma transfusão de sangue, como uma medida adicional para reduzir a mortalidade associada a este parasita, remover os glóbulos vermelhos infetados e, assim, diminuir a carga do parasita. (Dongare & Khatib, 2016)

As infeções mais graves de *Plasmodium falciparum* verificam-se em crianças. A malária pediátrica severa é provocada por este parasita que expressa um conjunto distinto de moléculas de PfEMP1 na superfície de eritrócitos infetados. Prevê-se que este grupo de moléculas tenha características que tornam os parasitas particularmente perigosos para o hospedeiro, através de estratégias biomoleculares, conseguem escapar da resposta imune e garantir a sobrevivência dentro do hospedeiro. (Jespersen et al., 2016) Estas estratégias vão desde uma fase assintomática no fígado a um sofisticado sistema de proteínas PfEMP utilizado pelo parasita, a fim de, evitar o reconhecimento imunológico e estabelecer uma infeção. (Gomes et al., 2016)

## 2. *Plasmodium vivax*

O *P. vivax* é a espécie mais geograficamente difundida e apresenta uma taxa de prevalência acima de 70% na Etiópia. (Demissie & Ketema, 2016) Comparativamente, à infecção provocada por *P. Falciparum* a que é induzida por *P. vivax* é menos perigosa, mas mais generalizada. (Renar et al., 2016) Por esta razão, este parasita é geralmente considerado benigno e na maioria das vezes provoca doenças febris sem complicações significativas. No entanto, nos últimos anos, o espectro de *P. vivax* tem sofrido alterações, tais como, não provocar somente febre terçã benigna, mas ser responsável por casos com complicações mais graves. Alguns destes casos, já se encontram relatados em diversos estudos, tais como: trombocitopenia, malária cerebral, coagulação intravascular disseminada, síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), disfunção hepática e envolvimento renal. (Sharma et al., 2013)

Um estudo descritivo hospitalar realizado no distrito de Pawe, na Etiópia, em crianças com menos de 10 anos de idade, sintomáticas, sem medicação prévia à doença atual e sem doença crónica, veio reforçar o carácter maligno do parasita, isto é, foi responsável por algumas complicações. Observou-se maior carga de parasitemia em crianças com menos de 5 anos, distúrbio respiratório e incidência de anemia grave. (Geleta & Ketema, 2016) Desta forma, é possível concluir que esta espécie pode ser fatal em pacientes de áreas endémicas, bem como em viajantes. (Bassat et al., 2016)

A malária é uma das infeções parasitárias mais comuns na Índia, com aproximadamente 55% dos casos provocados por *P. vivax*. Geralmente, as infeções por parasitas da malária induzem uma resposta esplénica, caracterizada principalmente por esplenomegalia moderada a grave. No entanto, em alguns doentes infetados, verificou-se a ocorrência de enfarte esplénico, isto é, oclusão do fornecimento vascular do baço, por coágulos, com subsequente necrose tecidual. Por este motivo, esta patologia deve ser considerada no diagnóstico diferencial dos pacientes com dor abdominal superior e febre. Assim, é possível concluir que o tamanho do baço é importante para determinar a intensidade da transmissão da malária em regiões endémicas. (Aggarwal et al., 2013)

*P. vivax* invade seletivamente os reticulócitos, glóbulos vermelhos imaturos, durante o ciclo assexuado, que expressam antígenos do grupo sanguíneo Duffy na sua superfície. Acredita-se que o grupo sanguíneo Duffy-negativo ofereça proteção contra a malária provocada por este parasita. (Venkatesh et al., 2016)



### 3. *Plasmodium ovale*

O parasita *Plasmodium ovale* foi descrito por Stevens em 1922. Desde então, tem tido pouco destaque, uma vez que é considerado um parasita incomum, com uma apresentação clínica leve e facilmente tratado com o fármaco antimalárico convencional, a Cloroquina. (Oguike et al., 2011) A distribuição natural deste parasita encontra-se sobretudo na África subsaariana e nas ilhas do Pacífico Ocidental. As contagens máximas de parasitas são geralmente baixas comparadas com as dos doentes infetados com *P. falciparum* ou *P. vivax*. (Collins & Jeffery, 2005)

Os casos de malária importada por *P. ovale* são mais comuns em ambientes não endémicos do que as infeções por *P. malariae*. Isto pode sugerir que as infeções nos viajantes refletem a abundância relativa de cada espécie de mosquito. Geralmente considerada uma infeção clinicamente leve, a malária provocada por *P. ovale* é ocasionalmente ligada a doenças graves e até mesmo fatais. *P. ovale curtisi* e *P. ovale wallikeri*, as duas espécies do género *Plasmodium ovale*, distinguem-se pela diferença no tempo de ativação de hipnozoítos na fase hepática do seu ciclo de vida. Os hipnozoítos correspondem a esporozoítos, que após invadirem os hepatócitos, permanecem num estado latente, sendo que podem ser reativados vários anos após a infeção. A característica epidemiológica destas espécies possibilita que ambas criem um mecanismo para evadir a quimioprevenção. Esta forma de tratamento impede o estabelecimento de uma infeção na fase do ciclo assexuado, e deste modo enquanto os níveis sanguíneos de fármaco forem mantidos a infeção está controlada. Contudo, assim que se terminar a administração dos medicamentos, os emergentes parasitas serão capazes de se multiplicar sem qualquer impedimento. (Sutherland, 2016)

As duas espécies são indistinguíveis microscopicamente, mas recentemente, foi descoberto um dimorfismo no gene que codifica o antígeno rico em triptofano de *P. ovale* (potra) que permite a distinção entre as duas espécies. Foram observadas variações de sequências e tamanhos dos fragmentos amplificados por PCR, com 299 ou 317 pb para o *P. ovale curtisi* e 245 pb para o *P. ovale wallikeri*. Estudos recentes indicam que o *P. ovale wallikeri* é mais patogénico. (Diallo et al., 2016) Assim, é possível concluir que as infeções por *Plasmodium ovale* apresentam desafios únicos devido ao longo período de latência que os hipnozoítos apresentam, a difícil distinção entre as duas espécies e, ainda, o facto de ser considerada uma espécie menos prevalente o que torna o diagnóstico da mesma mais complicado.

#### 4. *Plasmodium malariae*

A distribuição de *P. malariae* é generalizada na África subsaariana e no sudeste da região do Pacífico, onde a sua prevalência ultrapassou cerca de 30%. Os casos mais raros verificam-se na América do Sul, América Central, Ásia e Médio Oriente, com prevalência de 2%. Contudo, existem reservatórios selvagens, particularmente de *P. vivax* e *P. malariae* na América do Sul e em África, os quais podem comprometer o controlo da malária e os esforços para a sua erradicação. Atualmente, a malária é considerada um dos problemas de saúde pública mais graves na Colômbia, com mais de 90% de casos registados. As espécies de *P. malariae* representam o segundo agente causal da doença na população alvo. O aumento da infeção pelo parasita pode dever-se às alterações climáticas que afetam a região, principalmente devido ao aumento da temperatura e ao aumento da precipitação e humidade. (Camargo-Ayala et al., 2016)

Embora seja considerado como uma causa benigna de malária, este parasita tem sido associado a síndrome nefrótica, particularmente em crianças. Esta síndrome tem sido descrita como sendo difícil de tratar e, muitas vezes, não responde a corticosteróides, agentes imunossupressores e medicamentos antimaláricos. *P. malariae* também apresenta morbilidade significativa por anemia e um risco semelhante de mortalidade para pacientes hospitalizados como o de *P. falciparum* e *P. vivax*. (Langford et al., 2015) Uma característica interessante da infeção por *P. malariae* é a capacidade deste parasita persistir no hospedeiro por várias décadas. (Sutherland, 2016)

Atualmente, não existe um genoma de referência para *P. malariae*, em grande parte devido à baixa densidade parasitária encontrada na maioria das infeções, o que resulta numa produção limitada de ADN. (Rayner, 2015) Apesar deste parasita na maior parte das vezes, não causar uma infeção com risco de vida, tem sido associado a episódios de lesão renal. A infeção por *P. malariae* é geralmente crónica e a parasitémia é frequentemente baixa, o que dificulta o diagnóstico microscópico. À semelhança do que acontece com *P. ovale*, os doentes podem facilmente ser mal diagnosticados e são frequentemente tratados para infeções bacterianas. Nestes doentes, os glóbulos vermelhos infetados podem persistir por longos períodos de tempo em baixas densidades, devido ao menor número de merozoítos libertados após rutura do esquizonte maduro, o que conduz ao aumento da duração do ciclo eritrocítico (72 horas). (Badiane et al., 2014)

## 5. *Plasmodium knowlesi*

O parasita *P. knowlesi* tem origem símia. Foi isolado pela primeira vez em 1931 a partir de uma macaca de cauda longa, a *Macaca fascicularis*, importada para a Índia a partir de Singapura. (Singh & Daneshvar, 2010)

Numa investigação molecular de casos atípicos de *P. malariae* no hospital de Kapit, estado de Sarawak, na ilha de Bornéu na Malásia, em 2004, conclui-se que este parasita outrora apenas infeccioso para macacos, tinha entrado na população humana. (Ahmed & Cox-Singh, 2015) O desmatamento da floresta tropical na ilha de Bornéu, para usos agrícolas e minerais reduziu o habitat natural dos primatas. Essas atividades criam circunstâncias ecológicas que colocam os seres humanos em contato com os parasitas da malária e os seus vetores. Esta situação conduz a um risco aumentado de transmissão de doenças entre os primatas e os humanos. (Setiadi et al., 2016)

A infeção por *P. knowlesi* pode estar associada a alta parasitémia e provocar malária severa em adultos, tal como acontece com *P. falciparum*. A idade é fortemente associada à parasitémia e, portanto, é um fator de risco em casos de doença grave e fatal. Nas crianças o risco é menor, provavelmente devido ao baixo nível de parasitas no sangue, os quais serão insuficientes para provocar uma infeção. Além disso, as crianças podem ter uma proteção fisiológica após uma exposição primária ao parasita, tal como acontece com *P. falciparum*. Pelo contrário, os doentes mais velhos têm um risco superior. As complicações decorrentes de malária severa podem ser hiperparasitémia, dificuldade respiratória, choque, icterícia, lesão renal aguda e acidose metabólica. As mortes por *P. knowlesi* têm sido associadas ao tratamento parenteral tardio. (Rajahram et al., 2016)

A malária provocada por *P. knowlesi* tem sido relatada em todos os países do Sudeste Asiático, tais como a Tailândia, Myanmar, Singapura, Filipinas, Vietname e Indonésia, com exceção de Timor Leste e Laos, e é cada vez mais notificada por viajantes que estiveram nesses locais. (Barber et al., 2015)

O ciclo eritrocítico é mais curto, conduzindo a picos de febre a cada 24 horas, em comparação com 72 horas para *P. malariae* e 48 horas para *P. vivax*, *P. falciparum* e *P. ovale*. (Singh & Daneshvar, 2010) Um estudo demonstrou que *P. knowlesi* pode ser transmitido por uma transfusão de sangue, facto que vem representar um risco acrescido em áreas endémicas, particularmente nas de alto risco como é o caso da Malásia. (Bird et al., 2016)

## **IV. Tipos de Malária**

### **A. Malária Não Complicada**

Um doente que apresenta sintomas de malária e um teste parasitológico positivo (microscopia ou RDT) mas sem características de malária severa é definido como tendo malária não complicada. Tipicamente, a malária não complicada apresenta-se como uma doença febril indiferenciada. (Duque, Seixas, Ventura, da Cunha, & Meliço-Silvestre, 2012) O paroxismo febril é geralmente de 24h, ou mais, com temperatura timpânica > 38°C. (Tchaparian et al., 2016) Os objetivos clínicos do tratamento são curar a infeção tão rapidamente quanto possível e prevenir a progressão para uma doença grave, sendo que o termo cura define-se como a eliminação de todos os parasitas do corpo. Os objetivos de saúde pública do tratamento são prevenir a transmissão subsequente da infeção para outros, bem como evitar o surgimento e disseminação da resistência aos medicamentos antimaláricos. (World Health Organization, 2015)

### **B. Malária Severa**

Define-se como malária aguda provocada por *P. falciparum* com sinais de gravidade e/ou evidência de disfunção de órgãos vitais e concentração de hemoglobina <5g/100ml. A malária severa usualmente está associada a coma (malária cerebral), acidose metabólica, anemia grave, hipoglicémia, depressão, icterícia, convulsões múltiplas, insuficiência renal aguda, edema pulmonar agudo, hemorragia significativa, choque, hiperparasitaemia >10%. Se não for tratada, na maioria dos casos é fatal. (World Health Organization, 2015) Esta patologia causa entre 1 a 3 milhões de mortes por ano, principalmente em crianças e mulheres grávidas. (Geleta & Ketema, 2016)

A malária severa está associada a vários processos patológicos diferentes, como a ativação pró-inflamatória e pró-coagulante das células endoteliais, comprometimento da barreira hematoencefálica e congestionamento vascular causado pelos eritrócitos infetados com *P. falciparum*. Estes eritrócitos aderem-se às células endoteliais de vénulas pós-capilares de diversos órgãos, como o cérebro, pulmões e rins e não são detetados no sangue periférico. Pensa-se que este é o fenómeno desencadeante para muitos dos processos patológicos envolvidos na malária severa. (Jespersen et al., 2016) As interações parasitárias não estão restritas ao endotélio, e, como tal, os eritrócitos infetados podem ligar-se aos eritrócitos não infetados para formar rosetas, o que conduz à formação de agregados celulares que interferem na microcirculação. (Wassmer & Grau, 2016)

Antigamente, a malária severa em crianças subdividia-se em duas síndromes clínicas distintas: malária cerebral e anemia grave. Nas últimas três décadas, o financiamento substancial da investigação permitiu a determinação de uma fenotipagem clínica mais clara e detalhada da doença, a sua fisiopatologia e complicações. Assim, conclui-se que a malária severa engloba uma síndrome complexa que afeta muitos órgãos, resultando em alterações bioquímicas e hematológicas. (Maitland, 2015)

A malária severa provocada por *P. vivax* é idêntica à provocada por *P. falciparum*, mas sem limiares de densidade parasitária. Por outro lado, a malária severa associada ao *P. knowlesi* também é parecida à causada por *P. falciparum*, mas com duas diferenças: hiperparasitemia com densidade parasitária  $> 100.000/\mu\text{L}$  e icterícia com densidade parasitária  $> 20.000/\mu\text{L}$ . O principal objetivo do tratamento é evitar que o doente morra, bem como a prevenção de incapacidades e de uma infeção recrudescente. Uma infeção recrudescente refere-se à recorrência de parasitemia assexuada após tratamento inadequado, com o mesmo genótipo que causou a doença original. (World Health Organization, 2015)

### **C. Malária Cerebral**

Corresponde a uma malária severa provocada por *P. falciparum* mas com diminuição da consciência (escala de coma de Glasgow  $<11$ , escala de coma de Blantyre  $<3$ ) durante mais de 30 minutos após uma convulsão. (WHO, 2015) A escala de Blantyre (BCS) é utilizada em crianças que são muito pequenas e ainda não sabem falar. Os sintomas neurológicos iniciais são muitas vezes sonolência, confusão, falta de apetite e convulsões. (Maitland, 2015) A malária cerebral ocorre em cerca de 1% das infeções por *Plasmodium falciparum*, principalmente entre crianças. Alguns dos sinais e sintomas mais comuns são alterações do comportamento, da consciência, sinais focais, anemia severa e hemoglobinúria. Também podem surgir patologias mais graves, tais como: trombocitopenia, insuficiência renal aguda, edema pulmonar agudo, síndrome de sofrimento respiratório do adulto (ARDS), alterações da coagulação, colapso cardiovascular e choque. (Ch'ng et al., 2016)

O envolvimento cerebelar na malária por *P. falciparum* pode ocorrer durante o período agudo de febre, como efeito secundário de algum tratamento antimalárico e provocar sequelas em sobreviventes, sob a forma de ataxia cerebelar retardada (DCA). Esta patologia refere-se a doentes que desenvolveram ataxia cerebelar logo após a recuperação

completa de malária não complicada. Foram reconhecidas duas síndromes de ataxia cerebelar: ataxia cerebelar aguda e ataxia cerebelar tardia/retardada. A ataxia cerebelar aguda foi descrita em doentes com malária cerebral que tiveram ataxia cerebelar na recuperação do coma. Síndromes cerebelares têm sido relatados tanto em malária complicada como em não complicada provocada por *P. falciparum* e raramente após infecção por *P. vivax*. (Duque et al., 2012)

#### D. Malária Pediátrica

Em 2010, estima-se que mais de 500 milhões de crianças em idade escolar estavam em risco de infecção por malária, 200 milhões na África subsaariana. Como esperado, a prevalência de *P. falciparum* em crianças varia muito de área para área, mesmo dentro do mesmo país, dependendo do nível de transmissão. (Nankabirwa et al., 2014) A prevalência da infecção em crianças dos 2 aos 10 anos diminuiu de 33% em 2000 para 16% em 2015. (World Health Organization, 2016) Neste seguimento, foi a quarta maior causa de morte em crianças, cerca de 10% em África, tal como é possível verificar na figura 4. (Cibulskis et al., 2016)

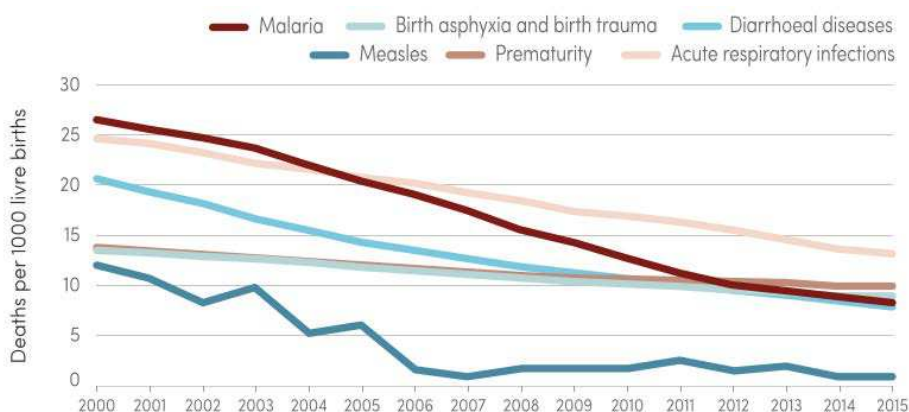


Figura 4- As seis principais causas de morte em crianças com idade inferior a 5 anos em África, entre 2000 e 2015. Retirado Cibulskis et al., 2016

Num hospital holandês uma menina de 2 anos e meio recorreu ao serviço de urgência com febre baixa, principalmente à noite, calafrios, tosse, rinorreia e anorexia há duas semanas. Quatro meses antes, a família foi de férias durante três semanas para o Chade, no norte de África. Como profilaxia a menina tomou mefloquina, mas parou uma semana antes de voltar para a Holanda. Fizaram análises e o teste de PCR identificou *P. malariae* e *P. falciparum*. Iniciou tratamento com Arteméter + Lumefantrina oral e três dias depois a menina já estava melhor, com o teste de PCR a detetar apenas vestígios de DNA de *Plasmodium*. Em conclusão, foi diagnosticada malária com uma infecção mista, 4 meses após a viagem. Uma possível causa pode ter sido a inadequada profilaxia com mefloquina,

sem continuação do tratamento nas quatro semanas seguintes após regressar da viagem o que induziu uma infeção retardada da doença. (Terveer, Brienens, Erkens, & van Lieshout, 2016)

### **E. Malária na Gravidez**

As mulheres grávidas que vivem em áreas endémicas de malária na África subsaariana, principalmente, apresentam um risco substancial de complicações durante a gravidez, tais como: hiperparasitemia, anemia grave, hipoglicémia e edema pulmonar agudo. Estima-se, que anualmente ocorrem 55 milhões de gravidezes em áreas de alta prevalência de *P. falciparum*. As mulheres grávidas com malária apercebem-se que não são só elas que sofrem mas também o bebé. (J. Hill et al., 2015) Na malária placentária, o processo infeccioso pode manifestar-se como: lesão física do sinciciotrofoblasto, uma camada de células embrionárias originada a partir dos trofoblastos, e, reorganização da irrigação da placenta, os quais vão contribuir para uma gravidez de alto risco e atraso no crescimento fetal. Estas mulheres também apresentam risco de ter malária severa, aborto espontâneo, parto prematuro, recém-nascidos de baixo peso, anemia, e mortalidade materna e perinatal. (Geleta & Ketema, 2016)

No Quénia, as mulheres infetadas pelo vírus VIH sofrem uma coinfeção por malária, pelo facto de terem todo o seu sistema imunitário mais comprometido. Considerando os efeitos nocivos da malária durante a gravidez, é extremamente importante tratar a doença adequadamente com medicamentos eficazes. (Ampromfi et al., 2016)

A malária durante a gravidez é um importante problema de saúde pública. Em áreas endémicas de malária, as gestantes têm um risco aumentado de infeção com *P. falciparum* e *P. vivax* ambos com maior parasitemia, em comparação com as mulheres não grávidas. (Barber et al., 2015) Embora o parasita *P. falciparum* não tenha potencial oncogénico por si só, parece aumentar o potencial do vírus Epstein-Barr (EBV). Alguns dados sugerem que a convergência de EBV e *P. falciparum* durante a gravidez pode conferir um risco acrescido de uma criança desenvolver posteriormente linfoma de Burkitt. (Nelson, 2016)

Os objetivos para o controlo da malária na gravidez ainda não foram alcançados, apesar do investimento na malária durante a última década, é necessário uma abordagem multidisciplinar que inclua a coordenação e integração de programas de malária e saúde materna e reprodutiva, maior provisão de recursos para fornecer os melhores cuidados pré-natais. (Menéndez, Ferenchick, Roman, Bardají, & Mangiaterra, 2015)

## V. Diagnóstico

Todos os casos de suspeita de malária devem ser submetidos a um teste parasitológico para confirmar o diagnóstico médico. É necessário um diagnóstico preciso, sensível, rápido e fácil para prevenir a propagação da doença. Os dois métodos utilizados rotineiramente para o diagnóstico parasitológico são a microscopia de luz e os testes de diagnóstico rápido (RDT). A microscopia ótica convencional é reconhecida como o teste padrão para o diagnóstico da malária amplamente utilizado para a detecção e quantificação dos parasitas. O RDT é um teste de detecção de antígeno imuno-cromatográfico de fluxo lateral, que se baseia na presença de antígenos plasmodiais que são evidenciados por uma linha colorida. Este teste permite uma detecção fiável de infecções por malária, particularmente em áreas remotas, com acesso limitado a serviços de microscopia de boa qualidade. (World Health Organization, 2015)

As formas anelares de todas as espécies são semelhantes, mas os gametócitos têm características específicas, exceto para as duas formas de *P. ovale*, que parecem idênticas. A malária provocada por *P. knowlesi* é frequentemente diagnosticada erroneamente como *P. malariae*, e como tal é necessária confirmação por PCR. (Yatsushiro et al., 2016) O teste de PCR baseado no gene *Plasmodium* 18S-rRNA tem sido amplamente utilizado para o diagnóstico da malária humana. Recentemente, foi desenvolvida uma nova técnica designada teste PCR direto, baseado em amplificações de ADN, que utiliza uma polimerase de ADN geneticamente modificada com rápido desempenho na presença de inibidores do sangue. Este método irá simplificar as amostras de rastreio, minimizar a possibilidade de contaminação e será útil na detecção de malária submicroscópica e/ou assintomática. (Echeverry et al., 2016)

Atualmente, o teste de diagnóstico colorimétrico mais utilizado é o imunoensaio de fluxo lateral. Estes métodos colorimétricos fornecem uma leitura sem equipamento, que é útil em locais com recursos limitados e sem laboratório. (Lathwal & Sikes, 2016)

Entre várias técnicas, a dielectroforese e magnetoforese têm a capacidade de enriquecer a concentração de eritrócitos infetados. Como tal, foram consideradas recentemente como novas possibilidades para o diagnóstico da malária devido às mudanças únicas nas propriedades elétricas e magnéticas dos glóbulos vermelhos infetados em comparação com os não infetados. (Kasetsirikul et al., 2016)





## **VI. Tratamento**

### **A. Quimioprofilaxia**

A importância da quimioprofilaxia foi provada por Giovanni Battista Grassi em 1901 no “Agro Pontino”, uma área pantanosa em Itália, ao demonstrar a veracidade da transmissão da doença pelos mosquitos. (Calleri, 2014) Define-se quimioprevenção como o uso de medicamentos antimaláricos para profilaxia e tratamento preventivo. É possível prevenir o surgimento da doença de duas formas: com fármacos que inibam o desenvolvimento na fase hepática do ciclo (profilaxia causal) ou com fármacos que destroem os estádios sanguíneos do parasita, na fase do ciclo sexuado (profilaxia supressiva). Assim, a profilaxia causal é constituída por dois fármacos, e pode ser interrompida logo após a saída de uma área endémica:

- Atovaquona + Proguanil (Malarone®)
- Primaquina

Pelo contrário, a profilaxia supressiva deve ser tomada durante pelo menos quatro semanas após a saída da área endémica, de forma a eliminar os parasitas assexuados que surgem no fígado após a exposição, tais como:

- Mefloquina (Mephaquin Lactab®)
- Doxiciclina (Vibramicina®)
- Cloroquina (Resochina®)

Para os viajantes, a quimioprofilaxia é iniciada uma semana antes da viagem para avaliar a tolerabilidade ao próprio fármaco, bem como aumentar as concentrações terapêuticas nos fármacos que são lentamente eliminados. (World Health Organization, 2015) Todas estas informações são cedidas na Consulta do Viajante, na qual o médico determina quais são as vacinas que são necessárias fazer dependendo da zona para que se vai viajar, isto é, com base no nível de transmissão de malária. Por exemplo, para Moçambique é necessário administrar a vacina da Hepatite A e da Febre Tifóide. Para outros locais, poderia ser necessário a vacina da Febre Amarela, Hepatite B, entre outras. Nesta consulta é fornecido um folheto informativo, com as recomendações sobre a vacinação, os produtos alimentares a ter especial atenção, os cuidados a ter na proteção contra os mosquitos, quais os medicamentos a levar no estojo médico, tais como: analgésicos, antidiarreicos, antibióticos, o antimalárico, etc. Assim, o objetivo do tratamento

preventivo é prevenir a doença, mantendo os níveis terapêuticos dos fármacos no sangue durante o período de maior risco. As atuais terapias quimiopreventivas de malária recomendadas pela OMS, em 2015, incluem:

### **1. Tratamento preventivo intermitente na gravidez (IPTp)**

Recomenda-se administração de Sulfadoxina + Pirimetamina (SP) (Fansidar®- comprimidos) a todas as mulheres na primeira ou segunda gravidez como parte dos cuidados pré-natais. A toma deve iniciar-se no segundo trimestre e as doses devem ser administradas com pelo menos 1 mês de intervalo, para garantir que sejam recebidas pelo menos três doses.

### **2. Tratamento preventivo intermitente na infância (IPTi)**

Em áreas de transmissão de malária moderada a elevada, recomenda-se Sulfadoxina + Pirimetamina (Fansidar®- ampolas) a lactentes com mais de dois meses, quando forem vacinados contra a DTP e o sarampo, respetivamente.

Nas áreas de transmissão sazonal na África subsariana, recomenda-se quimioprofilaxia com Amodiaquina mensal + SP para todas as crianças com menos de 6 anos de idade durante cada estação de transmissão.

### **B. Tratamento da Malária Não Complicada**

A malária não complicada pode progredir rapidamente para formas graves da doença, especialmente em pessoas com imunidade baixa ou inexistente. Por conseguinte, é muito importante o acesso ao diagnóstico precoce e ao tratamento imediato e eficaz no prazo de 24 a 48 horas após o início dos sintomas. As recomendações da OMS para tratar este tipo de malária em crianças e adultos, com exceção para as mulheres grávidas no primeiro trimestre, assentam nas terapias de combinação baseadas em artemisinina (ACT), tais como:

- Arteméter + Lumefantrina - AL (Riamet®)
- Artesunato + Amodiaquina (Coarsucam®)
- Artesunato + Mefloquina (Falcitrim®)
- Dihidroartemisinina + Piperaquina (Eurartesim®)
- Artesunato + Sulfadoxina-Pirimetamina (SP)

Os regimes de ACT devem ser administrados durante 3 dias com um derivado da artemisinina. (Anthony, Burrows, Duparc, Moehrle, & Wells, 2012) Em áreas de baixa transmissão, deve ser administrada uma dose única de 0,25 mg/kg de primaquina com um ACT para doentes com malária provocada por *P. falciparum*, à exceção de mulheres grávidas e crianças com menos de 6 meses. A proporção estimada de crianças na África subsaariana com idade inferior a 5 anos com malária por *P. falciparum* e que foram tratadas com um ACT aumentou de menos de 1% em 2005 para 16% em 2015. (Cibulskis et al., 2016) A combinação arteméter + lumefantrina, dihidroartemisinina + piperquina e artesunato + amodiaquina são os ACT de relevância primária utilizados em África. Quando o AL foi introduzido num tratamento de uma infeção na Guiné-Bissau em 2008, o seu efeito foi de 97%. (Ursing, Rombo, Rodrigues, & Kofoed, 2016) O fármaco arteméter apresenta um tempo de meia-vida de curta duração e é altamente eficaz, a lumefantrina, tem um tempo de meia-vida longo (aproximadamente 4,5 dias) que possibilita a eliminação dos parasitas residuais e reduz o risco de se desenvolverem resistências. Esta combinação é bastante eficaz e como tal é utilizada como terapêutica de primeira ou segunda linha em mais de 40 países em África. (Tchaparian et al., 2016) Em diversos estudos realizados entre 1998 e 2012 pela Rede Mundial de Resistência Antimalárica (WWARN), concluiu-se que a dose recomendada de AL fornece confiança e eficácia na maioria dos pacientes com malária não complicada, no entanto, as taxas de cura em crianças asiáticas e crianças com baixo peso africanas, foram mais baixas. Para garantir alta efetividade, estes medicamentos devem ser administrados num regime de tratamento otimizado, adaptado ao peso e à idade do doente. (Gbotosho & Akinola, 2015)

A resistência às artemisininas surgiu recentemente no Sudeste Asiático, e como tal põe em causa alguns dos ganhos no tratamento. No entanto, praticamente todos os países onde a malária de *P. falciparum* é endémica têm atualizado progressivamente a sua política de tratamento para o uso dos ACT. (Anthony et al., 2012)

Num estudo elaborado no Togo, na África Ocidental, tanto a combinação artesunato + amodiaquina como arteméter + lumefantrina foram bastante seguros e eficazes no tratamento da malária não complicada em crianças. (Dorkenoo et al., 2016) A adoção desta combinação de fármacos como tratamento de 1ª linha pode diminuir a incidência de complicações, prevenir o desenvolvimento de resistências e reduzir a carga socioeconómica da infeção. (Yakasai et al., 2015)

ACT	F.F	Dose	Regime
Arteméter + Lumefantrina	Comprimidos dispersíveis ou padrão	5-24mg/kg de Arteméter 29-144mg/kg de Lumefantrina	2 x dia durante 3 dias (total, seis doses). As duas primeiras doses devem ser separadas 8 h.
Artesunato + Amodiaquina	Comprimidos	4 (2-10) mg/kg de Artesunato 10 (7,5-15)mg/kg de Amodiaquina	1 x dia durante 3 dias
Artesunato + Mefloquina	Comprimidos pediátricos e para adultos	4 (2-10) mg/kg de Artesunato 8,3 (5-11) mg/kg de Mefloquina	1 x dia durante 3 dias
Dihidroartemisinina + Piperaquina	Comprimidos pediátricos e para adultos	4 (2-10) mg/kg de Dihidroartemisinina 18 (16-27) mg/kg de Piperaquina Crianças com <u>peso&lt;25kg</u> : 4 (2,5-10) mg/kg de Dihidroartemisinina 24 (20-32) mg/kg de Piperaquina	1 x dia durante 3 dias
Artesunato + Sulfadoxina-Pirimetamina	Comprimidos	4 (2-10) mg/kg de Artesunato 25/1,25 mg/kg de SP	Artesunato: 1 x dia durante 3 dias SP: uma dose única no 1º dia de tratamento

Tabela 1 – Resumo das combinações de fármacos ACT, segundo as orientações da OMS

Alguns doentes não conseguem tolerar o tratamento oral e como tal necessitam de administração parenteral ou retal durante 1 a 2 dias. Embora estes doentes não apresentem outros sinais de gravidade, devem receber os primeiros tratamentos antimaláricos recomendados para a malária severa.

O tratamento inicial rectal ou parenteral deve ser sempre seguido por um regime de 3 dias com um ACT. Todos os ACTs recomendados têm-se mostrado muito eficazes com taxas de cura parasitológica superiores a 95%. Embora existam pequenas diferenças na absorção oral, biodisponibilidade e tolerabilidade dos diferentes derivados da artemisinina, não há evidências de que estas sejam clinicamente significativas nas formulações atualmente disponíveis. Assim, a escolha de um ACT num país ou região deve basear-se na eficácia e adesão dos regimes terapêuticos. Na maioria dos países endêmicos, os ACT de primeira linha continuam a ser os mais eficientes, embora os padrões de resistência mudem ao longo do tempo, e, como tal, devem ser monitorizados de perto. (World Health Organization, 2015)

### **1. Tratamento da malária não complicada em grupos de risco**

- Primeiro trimestre da gravidez: 7 dias de quinina + clindamicina;
- Lactantes com peso corporal inferior a 5 kg: ACT na mesma dose que para crianças com peso de 5 kg;
- Pacientes coinfectados com VIH: evitar a combinação artesunato + SP se estiverem a ser tratados com cotrimoxazol e evitar o artesunato + amodiaquina se estiverem a tomar efavirenz ou zidovudina.
- Pacientes coinfectados com Tuberculose: A administração de rifampicina diminui a eficácia do tratamento com quinina e mefloquina
- Viajantes não imunes: tratamento com ACT
- Hiperparasitemia: apresentam um risco maior de falha do tratamento, malária grave e morte, e como tal devem ser monitorizados e receber tratamento com ACT (World Health Organization, 2015)

### **2. Tratamento de *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* e *P. knowlesi* não complicados**

Se a espécie de malária não for facilmente identificada, as recomendações da OMS são para tratar como a malária por *P. falciparum*.

Em áreas com infeções suscetíveis à cloroquina, os adultos e as crianças com *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* ou *P. knowlesi* devem ser tratados com um ACT ou cloroquina. Caso as infeções sejam resistentes à cloroquina, nesse caso deve ser utilizado apenas um ACT. (World Health Organization, 2015)

As mulheres grávidas no primeiro trimestre com malária por *P. vivax* que tenham resistência à cloroquina devem ser tratadas com quinina. Para além da cloroquina a

hidroxicloroquina também é referida como fármaco de primeira linha no tratamento da malária não complicada causada pelo *P. vivax* e mais raramente pelo *P. ovale*. A hidroxicloroquina é usada como alternativa à cloroquina e tem um perfil de reações adversas semelhante, sendo que se apresenta como:

- Sulfato de hidroxicloroquina (Plaquinol®)

Os efeitos benéficos da quinina e as suas formas sintéticas mais avançadas, a cloroquina e a hidroxicloroquina, têm sido cada vez mais reconhecidos no tratamento de outras doenças além da malária. (Ben-Zvi, Kivity, Langevitz, & Shoenfeld, 2012)

### **C. Tratamento da Malária Pediátrica**

As doses atualmente recomendadas de lumefantrina, piperaquina, SP, artesunato e cloroquina resultam em concentrações mais baixas de fármaco em crianças e lactentes. A dosagem precisa é particularmente importante para os bebés. O único agente antimalárico que está atualmente contraindicado para lactentes com menos de 6 meses é a primaquina. A falta de formulações infantis na maioria destes medicamentos faz com que seja necessário a divisão dos comprimidos para adultos, o que pode levar a uma dosagem incorreta. Sempre que estiverem disponíveis formulações e formas pediátricas são preferíveis, uma vez que melhoram a eficácia do tratamento com o ACT. A malária e a desnutrição estão relacionadas e por esta razão, pode conduzir à administração de uma dosagem incorreta quando as doses são baseadas na idade ou no peso. (World Health Organization, 2015)

### **D. Tratamento da Malária não complicada na Gravidez**

Os derivados da artemisinina podem causar embriotoxicidade e teratogenicidade, por isso no primeiro trimestre é recomendada a terapêutica com quinina + clindamicina. (Moore, Salman, & Davis, 2016) Para as mulheres no segundo ou terceiro trimestre, as diretrizes da OMS recomendam um regime de seis doses de arteméter + lumefantrina. Esta combinação foi associada a um menor número de efeitos adversos e a dihidroartemisinina + piperaquina apresenta melhor eficácia e um perfil de segurança aceitável. A quinina tem um risco aumentado de provocar hipoglicémia no final da gravidez e pode ser utilizada com clindamicina, apenas, se não existirem alternativas eficazes. Embora a experiência em relação ao uso de ACT na gravidez esteja a aumentar, a informação que existe é limitada, sobretudo na África Subsaariana. (Ampromfi et al., 2016)

Os desafios para a prevenção eficaz da malária durante a gravidez estão aumentados em mulheres grávidas que vivem com VIH especialmente porque o tratamento IPTp com sulfadoxina-pirimetamina está contraindicado na coinfeção quando fazem profilaxia com cotrimoxazol para prevenir infeções oportunistas. Além disso, ainda não foram identificadas abordagens adequadas para a profilaxia da infeção no primeiro trimestre, para as mulheres grávidas com VIH. Nestes casos, a proteção baseia-se principalmente em medidas de controlo do vetor, com ITNs, mosquiteiros tratados com inseticida. (Menéndez et al., 2015)

### **E. Tratamento da Malária Severa por *P.falciparum***

O tratamento da malária severa compreende principalmente a avaliação clínica do doente, tratamento antimalárico específico, tratamento adicional e cuidados de suporte. As recomendações da OMS consistem em tratar crianças e adultos incluindo mulheres grávidas em todos os trimestres e lactantes com artesunato intravenoso ou intramuscular durante pelo menos 24 horas, ou até conseguirem tolerar a medicação oral. Assim que o doente consiga tomar medicação oral completa o tratamento com mais 3 dias de um ACT. (World Health Organization, 2015) Existem duas classes de medicamentos para tratamento parenteral de malária severa: os derivados da artemisinina (artesunato ou arteméter) e os alcalóides da quinquina (quinina e quinidina). Contudo, o artesunato intravenoso é o mais indicado para este tratamento. Caso este não esteja disponível, utiliza-se preferencialmente o arteméter em comparação com a quinina. (Rajahram et al., 2016) O risco de morte por malária severa é maior nas primeiras 24 horas, porém, na maioria dos países endémicos, o tempo entre o encaminhamento e a chegada a um estabelecimento de saúde onde o tratamento intravenoso pode ser administrado é geralmente longo. A mortalidade por malária severa não tratada, particularmente malária cerebral, aproxima-se dos 100%. Com tratamento imediato e eficaz e os cuidados de suporte necessários a percentagem diminui para 10-20%. (Kremsner et al., 2016)

O aumento das viagens para países endémicos e o desenvolvimento rápido da resistência aos antimaláricos, diminui as possibilidades de controlo e eliminação da doença. Desta forma, novas terapêuticas para a malária severa estão em estudo. A maioria é terapêutica adjuvante de um esquizotónico para reduzir as sequelas a nível neurológico. Um exemplo interessante é o DF-02 (sevuparina sódica), um derivado da heparina sem atividade anticoagulante que bloqueia a formação de rosetas, o qual já completou ensaios clínicos de Fase I. (Anthony et al., 2012)



Fármaco	Administração	Dose recomendada
<b>Artesunato</b>	Injeção intravenosa ou intramuscular na coxa anterior.	Crianças com peso < 20 kg devem receber uma dose mais elevada de artesunato (3 mg/kg) do que as crianças maiores e adultos (2,4 mg/kg) para garantir uma exposição equivalente ao fármaco.
<b>Arteméter</b>	Injeção intramuscular na coxa anterior.	Dose inicial: 3,2 mg/kg Dose de manutenção: 1,6 mg/kg
<b>Quinina</b>	Parentérica: Infusão lenta, onde a taxa de infusão não deve exceder 5 mg de sal/kg/h	A primeira dose deve ser dividida, com 10 mg/kg em cada coxa. O dicloridrato de quinina não diluído com uma concentração de 300 mg/ml é ácido e doloroso quando administrado por injeção intramuscular, pelo que é melhor ser diluído até uma concentração de 60-100 mg/ml.

Tabela 2 – Resumo dos fármacos injetáveis usados na malária severa, segundo as orientações da OMS

## F. Tratamento da Malária Severa por *P. vivax*

O tratamento imediato e eficaz deve ser o mesmo que para a malária severa por *P. falciparum*. Após administração de artesunato parenteral, o tratamento deve ser concluído com um regime de ACT oral ou cloroquina. Após recuperação deve ser administrado um tratamento completo com primaquina. (World Health Organization, 2015)

## G. Recidivas

### 1. Recidiva de uma infeção por *P. falciparum*

A recidiva da malária define-se como a incapacidade de eliminar a parasitémia da malária ou prevenir a recrudesência após administração de um medicamento antimalárico, independentemente de os sintomas clínicos serem resolvidos. (WHO, 2015) A falha no tratamento pode resultar da resistência aos fármacos ou da exposição inadequada do mesmo, isto é, como resultado de uma subdosagem, fraca aderência, vômitos, entre outros. Este fenómeno pode ocorrer em dois espaços no tempo:

→ dentro de 28 dias: O tratamento de 2ª linha recomendado é um ACT alternativo.

→ após 28 dias: devem ser consideradas novas infecções que podem ser tratadas com um ACT de 1ª linha. No entanto, a reutilização de mefloquina no prazo de 60 dias após o primeiro tratamento está associada a um risco aumentado de reações neuropsiquiátricas e como tal deve ser utilizado um ACT alternativo. (World Health Organization, 2015)

## **2. Prevenção de recidivas em *P. vivax* ou *P. ovale***

Consiste num tratamento projetado para matar hipnozoítos e, assim, evitar recidivas ou infecções primárias tardias com *P. vivax* ou *P. ovale*. O objetivo do tratamento é curar a infecção no estadio de sangue e no estadio hepático do ciclo de vida do parasita, ou seja conseguir a cura completa da infecção. Esta forma de terapêutica designa-se tratamento radical. (WHO, 2015) A primaquina é o único fármaco licenciado pela FDA para tratar estirpes de recidiva de malária. (Marcsisin, Reichard, & Pybus, 2016)

O estado da Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), isto é, se os indivíduos têm deficiência nesta enzima ou não, vai orientar a administração de primaquina para prevenir a recidiva. Segundo a OMS as crianças e os adultos à exceção de mulheres grávidas e lactentes com menos de 6 meses, devem ser tratados segundo um regime de 14 dias. Contudo, em situações epidemiológicas este regime pode ser impraticável devido à duração do tratamento e à dificuldade de assegurar a adesão. Neste caso, se os registos adequados forem mantidos, a terapêutica pode ser administrada no período pós-epidémico. Em pessoas com deficiência de G6PD, pode ser administrada primaquina a 0,75 mg/kg uma vez por semana durante 8 semanas, com supervisão médica. Quando o status de G6PD é desconhecido e o teste não está disponível, a decisão de prescrever este fármaco deve ser feita com base na avaliação dos riscos e benefícios. (World Health Organization, 2015) Este fármaco provoca, por vezes, anemia hemolítica aguda com risco de vida em doentes com deficiência de G6PD. Por este motivo, torna-se relevante o estudo e aplicação de novos fármacos neste contexto que sejam mais seguros. (Bassat et al., 2016)

Em mulheres grávidas ou a amamentar, pode ser feita uma quimioprofilaxia semanal com cloroquina, até o parto e o aleitamento materno estarem concluídos, de forma a evitar a infecção por estes parasitas. A primaquina não é recomendada na gravidez nem na lactação porque o status de G6PD do feto não é conhecido e pela incerteza acerca da possível excreção no leite materno. (Chu & White, 2016) No entanto, num estudo realizado sobre

a cloroquina, comprovou-se que esta pode provocar perda auditiva neurossensorial irreversível, ou seja, pode ser ototóxica para o feto. (Da Silva et al., 2015) Assim sendo, é necessário realizar novas pesquisas para otimizar o fornecimento desta terapêutica com maior eficácia e segurança, bem como estratégias para garantir a adesão ao tratamento.

## **H. Resistências**

A resistência a fármacos antimaláricos é a capacidade de uma estirpe parasitária sobreviver e multiplicar-se apesar da administração e absorção de um fármaco antimalárico. Este fenómeno surge devido à seleção de parasitas com alterações genéticas (mutações ou amplificações de genes) que conferem uma suscetibilidade reduzida. A resistência tem sido documentada para todas as classes de antimaláricos, incluindo os derivados da artemisinina, o que torna bastante alarmante o controlo da doença. (World Health Organization, 2015)

A resistência à artemisinina surgiu na região oeste do Camboja e atualmente estende-se em toda a sub-região do rio Mekong, (a partir do Vietname para Myanmar), bem como até à fronteira oriental da Índia. A resistência à cloroquina surgiu exatamente no mesmo lugar há cerca de 60 anos, tendo depois atingido todo o território africano. O parasita *P. vivax* é altamente resistente à cloroquina na Indonésia e Oceânia. Noutros lugares, esta resistência está presente em menor escala em várias áreas endémicas como no Sudeste Asiático e na América do Sul. Os ACTs são uniformemente eficazes contra os estadios sanguíneos de *P. vivax*, exceto na combinação sulfadoxina-pirimetamina. Nesta combinação *P. vivax* e *P. ovale* formam parasitas de fase hepática latentes, os hipnozoitos, que causam recidivas da infeção e só podem ser tratados com primaquina, no tratamento de "cura radical". É possível deste modo verificar que os parasitas criaram uma nova resistência à combinação SP. (White, 2016) .

A halofantrina (Halfan®) é um dos fármacos recomendados para o tratamento da malária quando há resistência à cloroquina. A sua utilidade terapêutica é, contudo, limitada pelo facto de apresentar uma biodisponibilidade muito variável e cardiotoxicidade significativa. (J.-Y. et al., 2012)

Os compostos de ação rápida têm sido um foco no desenvolvimento terapêutico, uma vez que impedem rapidamente a progressão da doença e evitam complicações graves, sendo que o benefício adicional da redução das resistências os torna ainda mais interessantes para futuros projetos antimaláricos. (Corey et al., 2016)

## I. Novos tratamentos em estudo

O desenho de fármacos antimaláricos dirigido a apicoplastos, é uma nova dimensão no desenvolvimento de fármacos parasitários. Já foram identificados compostos com alvos direcionados ao apicoplasto. Se estas opções forem bem sucedidas nos ensaios clínicos, contribuem para um enorme avanço no desenvolvimento de novos fármacos. (Mukherjee & Sadhukhan, 2016)

Vários dos compostos em desenvolvimento têm novos alvos terapêuticos, seguem-se alguns exemplos que se encontram em ensaios clínicos de fase II:

- ❖ AQ-13: uso na malária provocada por *P. falciparum* resistente à cloroquina.
- ❖ Ferroquina: ativo contra *P. falciparum* resistente à cloroquina e tem sido bem tolerado e eficaz em combinação com artesunato.
- ❖ DSM 265: ativo contra os estadios de sangue e hepáticos de *P. falciparum*
- ❖ Ozonídeos (Arterolano e Artefenomel): O primeiro é eficaz na malária de *P. falciparum* e *P. vivax*. O segundo atua mais lentamente em comparação com os derivados de artemisinina, e a taxa de depuração parasitária de *P. falciparum* resistente à artemisinina é menos afetada. Estão em curso estudos para avaliar os efeitos do arterolano sobre as infecções resistentes à artemisinina.
- ❖ Cipargamina (KAE 609): produz desregulação osmótica e, deste modo, inchaço em parasitas assexuais que conduzem à depuração mais rápida do parasita tanto no *P. falciparum* como no *P. vivax*.
- ❖ KAF 156: atua nos estadios de sangue e hepáticos de *P. falciparum* e *P. vivax*.

Para além destes fármacos estão a ser estudadas novas combinações e outros fármacos que já estão em ensaios clínicos mais avançados, tais como:

- artesunato + pirronaridina (Pyramax®): Este novo ACT está a ser registado em vários países pois já passou por testes rigorosos de fase IV. A pirronaridina apresenta algumas semelhanças com a amodiaquina, mas tem maior atividade contra o *P. falciparum* resistente a múltiplos fármacos. Esta combinação é geralmente bem tolerada e muito eficaz.
- Tafenoquina: Após surgimento da resistência à sulfadoxina-pirimetamina em muitas áreas de malária provocada por *P. vivax*, o único avanço nos últimos 65 anos tem sido o desenvolvimento deste fármaco. Este permite a cura da doença por radiação em dose única. Encontra-se atualmente em ensaio clínico de fase III.

O principal efeito adverso desta classe de fármacos é a hemólise oxidante na deficiência de G6PD. Assim, tem sido extensivamente investigado para se encontrar um método que atenuasse esse risco. (White, 2016)

## **J. Vacinas**

Embora tenha havido investimento no desenvolvimento de vacinas contra a malária, o progresso até à data tem sido inadequado. A malária tem um ciclo de vida complexo e estão a ser desenvolvidas vacinas para as fases pré-eritrocitárias e eritrocitárias (sangue), bem como especificamente concebidas para evitar a contínua transmissão. As vacinas de fase de sangue terão impacto principalmente na gravidade da doença, pelo contrário, as vacinas pré-eritrocitárias são indicadas na prevenção da infeção. (Gupta, 2015)

A vacina mais avançada atualmente é a RTS,S/AS01 (Mosquirix®), uma vacina recombinante contra o estadio pré-eritrocítico do parasita *P. falciparum*, em que as regiões da proteína, circumsporozoito, se fundem com o antígeno de superfície da hepatite B. Esta vacina foi desenvolvida por uma parceria público-privada, da empresa GlaxoSmithKline com o apoio da Fundação Bill e Melinda Gates. Foi realizado um ensaio randomizado, duplamente cego, de fase III envolvendo 15.459 lactentes e crianças de sete países da África subsaariana. Neste ensaio, crianças dos 5 aos 17 meses de idade e com 6 a 12 semanas de idade foram distribuídas aleatoriamente para receber três doses da vacina contra a malária, ou quatro doses de uma vacina comparativa. O seguimento foi feito durante 4 anos, sendo que a proteção geral contra todos os episódios de malária foi de 28% no grupo que recebeu três doses e 36% no grupo das quatro doses. A eficácia da vacina diminuiu ao longo do tempo e tornou-se insignificante após 32 meses de seguimento entre os participantes no grupo das três doses e no outro grupo a eficácia também baixou mas manteve-se significativa até ao final do seguimento. Embora muito promissora a Mosquirix® não atingiu os níveis de proteção e longevidade necessários para a erradicação da malária. (Keitany, Vignali, & Wang, 2014) A reinfeção da malária pode ocorrer porque a vacina protege contra os esporozoítos, mas não induz a imunidade clínica contra os parasitas no estadio de sangue. (Olotu et al., 2016) O licenciamento iminente da primeira vacina contra a malária representa um grande avanço no combate à doença. Avaliar a eficácia da próxima geração de vacinas apresenta desafios adicionais, mas os novos candidatos demonstraram-se promissores nos estudos pré-clínicos e em pequenos ensaios clínicos. (Tran, Portugal, Draper, & Crompton, 2015)

Serão realizados estudos com anticorpos monoclonais humanos e humanizados para explorar a interação dos parasitas no hospedeiro humano. (Miura, 2016)

A proteína DBP (DuffyBindingProtein) é necessária para a prevenção da infecção dos reticulócitos. A sua natureza polimórfica induz respostas específicas para o desenvolvimento de vacinas. DEKnull é um antígeno sintético baseado em DBP que foi modificado por uma mutação para aumentar a indução de anticorpos bloqueadores inibitórios. Assim, esta proteína DEKnull é uma melhoria interativa da DBP candidata a uma vacina. (Chen, Salinas, Ntumngia, Adams, & Tolia, 2015)

O homólogo 5 da proteína de ligação a reticulócitos de *P. falciparum* (PfRH5) mostra-se promissor nesta área e pode ser utilizado em conjunto com outros antígenos de merozoítos como uma potencial vacina. (Shen et al., 2015)



## **VII. Eliminação**

O sucesso das estratégias de eliminação da malária baseia-se fundamentalmente na interrupção do ciclo de transmissão do parasita entre o vetor e o hospedeiro. (Karunajeewa & Mueller, 2016)

Em 2009, os Ministros da Saúde de oito países de África, reuniram-se na Namíbia, para deliberar sobre os mecanismos e as parcerias necessárias para a eliminação da malária na sua região. Em 2010, também se realizou uma reunião, desta vez em Moçambique, que serviu de fórum para que os Ministros da Saúde coordenassem os esforços e avaliassem os progressos realizados. Quatro países da linha da frente (Botsuana, Namíbia, Suazilândia e África do Sul) foram posicionados para passar imediatamente do controlo para a eliminação, enquanto os outros quatro (Angola, Moçambique, Zâmbia e Zimbabwe) deveriam consolidar o controlo primeiro e só depois começavam a fase de eliminação. (Sande et al., 2016) É possível depreender que um número crescente de países está a avançar para a eliminação da malária. No ano 2000, apenas 13 países, tinham menos de 1000 casos de malária, em 2015, 33 países atingiram esse marco. Além disso, em 2014, 16 países relataram zero casos da doença, eles são: Argentina, Armênia, Azerbaijão, Costa Rica, Iraque, Geórgia, Quirguistão, Marrocos, Omã, Paraguai, Sri Lanka, Tajiquistão, Turquia, Turquemenistão e Uzbequistão. A Região Europeia da OMS reportou pela primeira vez em 2015 zero casos indígenas de malária. Contudo, a erradicação da malária ainda não foi possível, estima-se que mais de 2 mil milhões de pessoas correm o risco de ter a doença. (Cibulskis et al., 2016)





### VIII. Prevalência em Portugal

A malária por *P. falciparum* é a doença parasitária importada mais comum em Portugal. Na maioria das vezes, os pacientes são infetados em África. A malária deve ser suspeitada em qualquer pessoa com febre ou história de febre que tenha retornado ou visitado previamente uma área endémica de malária, independentemente de ter sido ou não tomada profilaxia. (Duque et al., 2012) Embora Portugal tenha sido um dos primeiros países a erradicar a malária na Europa, em 1962, o peso da doença continua a sentir-se, principalmente devido à estreita relação com as suas antigas colónias africanas. (Neno, Marques, Paulo, & Santos, 2015)

O Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Francisco Cambournac, situado em Águas de Moura tem um museu dedicado à erradicação da malária. Após visita desse espaço, retirei algumas notas que considerei interessantes. A malária conhecida por Paludismo, Febre Palustre, Febres Intermitentes, Sezões, Maleitas ou Sezonismo surgiu em África há mais de um milhão de anos. Durante muito tempo, atribui-se a causa da doença aos vapores libertados da vegetação em decomposição. Os médicos Charles Laveran e Ronald Ross esclareceram a verdadeira origem da doença. Esta descoberta concedeu-lhes o Prémio Nobel da Paz em 1907 e 1902. Em 1903, Ricardo Jorge afirmou: “A questão do sezonismo é, como poucas, uma questão patriótica. Não será temeridade afirmar-se que a infeção sazonal avulta entre as piores pragas coletivas que flagelam a população portuguesa.” Com base nisto, é importante destacar algumas das datas mais marcantes da história da prevalência da malária em Portugal. Assim, em 1930 deu-se o início da luta contra a malária no nosso país. Em 1933, Alcácer do Sal apresentava a maior percentagem de indivíduos (95%) com esplenomegalia, dado que na zona da Águas de Moura verificava-se o índice máximo parasitário, cerca de 34%. Em 1935, a aldeia tinha 380 habitantes, pobres, a viverem em casas térreas ou cabanas feitas de palha ou “caniço”. No início da década de 40, em Portugal existiam cerca de 70.000 casos anuais de malária, dos quais 30.000 representavam o número de crianças infetadas. Em 1941, a forma hiperendémica atingia a zona Sul do Tejo, isto é, índice de sezonismo superior a 50%. Mais tarde, em 1958 registou-se o último caso indígena em Portugal, mas só quatro anos mais tarde é que a doença foi considerada como erradicada.

As zonas mais sazonáticas de Portugal situam-se nas bacias hidrográficas dos rios (Douro, Tejo, Mondego, Sado e Guadiana). Mas as particularidades climáticas, os tipos e a extensão dos locais de criação dos anófeles conferem-lhes características especiais.

A grande maioria das larvas do mosquito *Anopheles* encontravam-se nos campos de arroz. (Malcom & Macgregor, 1927) Os mosquitos encontrados pertenciam a três espécies: *plumbeus*, *claviger* e *macculipennis*. Nesta última espécie, também se encontravam duas outras variedades *typicus* e *atroparvus*. (Cambournac, 1947)

As espécies de *Plasmodium* que originavam malária no vale do sado eram *P. falciparum* e *P. vivax*, as quais alternavam a sua dominância durante períodos de 5 anos. Portugal era um dos países da Europa com maior taxa de mortalidade, apenas superior em Itália e Espanha, sendo que o concelho de Setúbal era o mais afetado. A maior percentagem de mortalidade registava-se nos meses de Verão e Outono, atingindo principalmente a faixa etária de crianças até aos 10 anos do sexo masculino. (R. B. Hill, 1938)

As medidas tomadas pelo Instituto de Malariologia para prevenção da doença tinham três naturezas: mecânica, tóxica e biológica. A mecânica baseou-se na introdução de mecanismos de irrigação intermitente, para reduzir a superfície das águas estagnadas e assim evitar que as fêmeas do mosquito *anopheles* colocassem ovos. O intervalo de tempo durante o qual os arrozais permaneciam alagados era tão extenso, que não permitia a eclosão dos *anopheles* adultos. A tóxica consistiu na aplicação de larvicidas como o Verde de Paris, o petróleo, o óleo, a parafina, o sulfato de cobre e o DDT. Por fim, a biológica prendeu-se com o uso de plantas e introdução de gambúsias, um peixe que se alimenta das larvas do mosquito.

Em Portugal, a doença está incluída no sistema de vigilância de Doenças Transmissíveis de Declaração Obrigatória. O reconhecimento da gravidade da malária e a existência de medidas preventivas eficazes é um dos fundamentos da Consulta do Viajante que, em Portugal, funciona principalmente em Serviços de Saúde Pública e em Serviços de Doenças Infeciosas. (Castro et al., 2003)

Desde a erradicação da doença, todos os casos identificados em Portugal foram importados e ocorreram em viajantes que regressaram de países tropicais. Segundo os dados da Direção Geral de Saúde, entre 1994-98 cerca de 50% dos casos importados foram registados na região de Lisboa e Vale do Tejo, predominantemente do sexo masculino e em grupos etários compreendidos entre os 25 e os 54 anos. Em 2000 registaram-se 39 casos e, em 2011, foram notificados 58 casos importados de malária. Desde 2008 que o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge e a DGS, em colaboração com as Administrações Regionais de Saúde e as Regiões Autónomas, têm

um programa de vigilância das populações de mosquitos em Portugal, designado por REVIVE. (DGS, 2012)

### 1. Análise de casos

- ◆ Um novo método automatizado (Cell-Dyn® 3500) permite o diagnóstico da doença detetando o pigmento da malária em glóbulos brancos durante as contagens de sangue de rotina. Em Portugal, foram analisadas 174 amostras de 148 doentes que se apresentaram no Serviço de Urgência de um hospital em Lisboa. Em comparação com a microscopia, a sensibilidade foi de 95% e a especificidade foi de 88%. Existiram 5 casos, falso-positivos de doentes que tiveram uma história recente de malária tratada, indicando que o método pode permanecer positivo durante a convalescença. Seis doentes foram diagnosticados apenas com o método automatizado. Este instrumento parece fornecer um método promissor para o diagnóstico da malária, especialmente onde as contagens de sangue são rotineiras no processamento de pacientes febris. (Hänscheid, Melo-Cristino, & Pinto, 2001)
- ◆ Homem caucasiano de 14 anos, residente na República Democrática do Congo, foi observado em Portugal com malária severa por *P. falciparum* com parasitemia elevada e trombocitopenia grave. A sua situação clínica agravou-se pela paralisia bilateral do sexto par craniano, seguida pelo aparecimento de ataxia cerebelar tardia durante a fase de recuperação. Isto ocorreu após tratamento com quinina e doxiciclina durante sete dias. O paciente recuperou completamente após três meses. (Duque et al., 2012)
- ◆ Entre 2000 e 2009, registaram-se 2003 admissões de malária nos hospitais do SNS em Portugal. Os dados mostram uma tendência decrescente anual. A letalidade geral no hospital foi de 1,95% e o tempo médio de permanência foi de 8,09 dias. Este foi o primeiro estudo abrangente a nível nacional sobre a malária importada em Portugal e que fornece uma nova perspetiva sobre as estimativas de carga da malária, particularmente no que respeita à malária tratada em hospitais. O *P. falciparum* foi a espécie plasmódica responsável pelos casos de malária e a região subsariana foi a região principal de infeção. (Fonseca, Dias, Baptista, & Torgal, 2014a)

- ◆ Uma mulher de 24 anos de Angola apresentou-se num hospital da Universidade do Porto com uma história de febre, náuseas, vômitos e diarreia há três dias. Estava em Portugal há 9 dias. Um esfregaço de sangue revelou a presença de *P. falciparum* com 4% de parasitêmia. Fez uma TAC que revelou edema cerebral difuso. O teste de VIH de 4ª geração foi positivo. Iniciou tratamento intravenoso para a malária com quinina e clindamicina e terapia anti-edema com manitol. Teve alta 12 dias depois e foi encaminhada para uma clínica de VIH para acompanhamento. (Pereira, Sarmiento, & Santos, 2015)
- ◆ Um homem de 41 anos português apresentou-se nas urgências de um hospital com uma história de 2 dias de febre e cefaleia. Esteve a trabalhar em Angola nos últimos 3 anos e regressou há 3 semanas. Relatou um episódio anterior de malária diagnosticada em Angola, tratada com derivados da artemisinina. Um esfregaço de sangue revelou a presença de *P. falciparum*, e parasitêmia de 54%. A terapêutica intravenosa com quinina e doxiciclina foi prontamente iniciada. No 5º dia de internamento desenvolveu insuficiência respiratória aguda e choque, necessitando de suporte de norepinefrina e ventilação mecânica invasiva. O teste de VIH realizado foi positivo. Teve alta 47 dias depois da admissão e foi encaminhado para uma clínica de VIH para acompanhamento. (Pereira et al., 2015)

Como é possível verificar, os viajantes podem ser cruciais na disseminação de doenças infecciosas, representando um potencial risco em áreas que têm o vetor *Anopheles* erradicado. (Leder & Chen, 2016) Em particular, Portugal mantém relações firmes com países africanos de língua portuguesa que não são só um dos destinos mais comuns dos viajantes, mas também os países de origem dos migrantes que entram no país. Estes países, nomeadamente Angola e Moçambique, são representativos da transmissão da doença e da elevada prevalência da infeção pelo VIH. Assim, com o número crescente de pessoas que viajam para estes destinos e os períodos longos de permanência, a probabilidade de contraírem uma coinfeção de malária e VIH está aumentada. A atual situação em Portugal destaca a importância de uma maior sensibilização para a malária e gestão de riscos, com medidas específicas adaptadas às necessidades deste grupo especial de viajantes em cuidados pré-viagem e de cuidados no diagnóstico e tratamento adequado e oportuno nos cuidados pós-viagem. (Fonseca, Dias, Baptista, & Torgal, 2014b)

## IX. Conclusão

A malária continua a ser uma importante causa de doença e morte em crianças e adultos nos países em que é endémica. O controlo da doença requer uma abordagem integrada, desde a forma de transmissão dos vetores, à prevenção e tratamento imediato e eficaz. A compreensão da biologia e comportamento dos mosquitos *Anopheles* pode ajudar a entender a forma como a malária é transmitida e contribuir para a criação de estratégias de controlo adequadas. Alguns dos fatores que afetam a capacidade do mosquito de transmitir malária incluem: a suscetibilidade inata da espécie *Plasmodium*, a escolha do anfitrião, e a sua longevidade. Para além destas características, também se deve considerar a resistência que apresentam a alguns inseticidas e medicamentos antimaláricos, visto que vão dificultar o tratamento desta doença.

A deteção precoce pode salvar vidas, prevenir surtos da doença, bem como permitir o enriquecimento do estudo de parasitas, importantes na pesquisa da malária. O acesso universal ao diagnóstico parasitológico da malária é agora possível com a utilização de testes de diagnóstico rápidos, RDTs, os quais também são apropriados para uso em cuidados de saúde primários e estabelecimentos nas comunidades.

A terapêutica combinada ACT utilizada como 1<sup>a</sup> linha no tratamento da malária não complicada tem como objetivo prevenir a resistência dos parasitas aos fármacos e contribuir para o sucesso das estratégias para a eliminação da doença. Com base nisto, todos os episódios de malária deveriam ser tratados com pelo menos dois medicamentos antimaláricos eficazes, com diferentes mecanismos de ação.

Numa situação de malária severa, pelo facto de ser potencialmente fatal, qualquer doente considerado de maior risco deve receber o melhor tratamento possível, com todos os cuidados de suporte que sejam necessários.

O surgimento de resistências aos medicamentos limita fortemente o seu uso, e como tal, todas as doenças febris no contexto da malária devem ser corretamente diagnosticadas, para que os fármacos utilizados sejam os mais indicados para cada espécie. A baixa adesão à terapêutica é uma das principais causas na falha do tratamento, e assim, impulsiona a emergência e disseminação da resistência aos antimaláricos.

Os investimentos em programas de eliminação de malária não só irão reforçar os sistemas de saúde como reduzem a morbilidade da doença. Contudo, estes programas de financiamento continuam enfraquecidos, e como tal continuam a representar um desafio na luta contra a doença e a sua eliminação.

A vacina Mosquirix® apesar de já representar um grande avanço no controlo da malária, ainda apresenta alguns desafios de implementação, tais como: a baixa eficácia, a viabilidade do esquema de administração, o seu valor no contexto da doença, entre outros. Assim, é fundamental a continuação dos estudos feitos neste contexto com o objetivo de se descobrir uma vacina totalmente eficaz contra a doença.

Tal como o Dengue a Malária é uma doença emergente que pode reaparecer devido a alterações climáticas. O aquecimento global induzido pela atividade humana aumentou o risco de doenças transmitidas por vetores, como a malária. As últimas décadas têm testemunhado mudanças no ecossistema e no clima sem precedentes na história da humanidade. Embora seja dado destaque ao papel da temperatura sobre a epidemiologia da malária, outros fatores, como: as mudanças nos ecossistemas, a presença de fluxos migratórios de países endémicos, a instabilidade política e as medidas utilizadas na saúde contribuem igualmente para um possível aumento da transmissão da doença.

Em Portugal, a malária importada deve-se sobretudo à intensidade da transmissão nos locais onde os turistas vão passear, bem como às atividades que realizam durante a viagem, o tipo de acomodações e a adesão ao tratamento profilático e a sua correta administração.

Todos estes fatores se correlacionam e têm implicações na saúde pública, e desta forma devem ser considerados para se tentar ao máximo melhorar o controlo da malária e continuar os esforços de eliminação desta mesma doença em todo o planeta.

## X. Bibliografia

Aggarwal, H. K., Jain, D., Kaverappa, V., Jain, P., Kumar, A., & Yadav, S. (2013). Multiple splenic infarcts in acute *Plasmodium vivax* malaria: A rare case report. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6(5), 416–418. [http://doi.org/10.1016/S1995-7645\(13\)60051-6](http://doi.org/10.1016/S1995-7645(13)60051-6)

Ahmed, M. A., & Cox-Singh, J. (2015). *Plasmodium knowlesi* - an emerging pathogen. *ISBT Science Series*, 10(Suppl 1), 134–140. <http://doi.org/10.1111/voxs.12115>

Ampromfi, A., Tinto, H., Traoré-Coulibaly, M., Tahita, M., Valéa, I., Mwapasa, V., ... Mulenga, J. (2016). Four Artemisinin-Based Treatments in African Pregnant Women with Malaria. *N Engl J Med*, 374(10), 913–927. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1508606>

Anthony, M. P., Burrows, J. N., Duparc, S., Moehrle, J. J., & Wells, T. N. C. (2012). The global pipeline of new medicines for the control and elimination of malaria. *Malaria Journal*, 11(1), 316. <http://doi.org/10.1186/1475-2875-11-316>

Arévalo-Herrera, M., Vallejo, A., Rubiano, K., Solarte, Y., Marin, C., Castellanos, A., ... Herrera, S. (2016). Recombinant Pvs48/45 Antigen Expressed in *E. coli* Generates Antibodies that Block Malaria Transmission in *Anopheles albimanus* Mosquitoes. *PLOSone*. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0119335>

Assefa, M., Eshetu, T., & Biruksew, A. (2015). Therapeutic efficacy of chloroquine for the treatment of *Plasmodium vivax* malaria among outpatients at Hossana Health Care Centre, southern Ethiopia. *Malaria Journal*, 14(1), 458. <http://doi.org/10.1186/s12936-015-0983-x>

Badiane, A. S., Diongue, K., Diallo, S., Ndongo, A. A., Diedhiou, C. K., Deme, A. B., ... Ndiaye, D. (2014). Acute kidney injury associated with *Plasmodium malariae* infection. *Malaria Journal*, 13(1), 226. <http://doi.org/10.1186/1475-2875-13-226>

Barber, B. E., Bird, E., Wilkes, C. S., William, T., Grigg, M. J., Paramaswaran, U., ... Anstey, N. M. (2015). *Plasmodium knowlesi* malaria during pregnancy. *Journal of Infectious Diseases*, 211(7), 1104–1110. <http://doi.org/10.1093/infdis/jiu562>

Bassat, Q., Velarde, M., Mueller, I., Lin, J., Leslie, T., Wongsrichanalai, C., & Baird, J.



- K. (2016). Key Knowledge Gaps for Plasmodium vivax Control and Elimination. *Am J Trop Med Hyg*. <http://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0180>
- Ben-Zvi, I., Kivity, S., Langevitz, P., & Shoenfeld, Y. (2012). Hydroxychloroquine: From malaria to autoimmunity. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 42(2), 145–153. <http://doi.org/10.1007/s12016-010-8243-x>
- Bird, E. M., Parameswaran, U., William, T., Khoo, T. M., Grigg, M. J., Aziz, A., ... Barber, B. E. (2016). Transfusion-transmitted severe Plasmodium knowlesi malaria in a splenectomized patient with beta-thalassaemia major in Sabah, Malaysia: a case report. *Malaria Journal*, 15(1), 357. <http://doi.org/10.1186/s12936-016-1398-z>
- Bruce-Chwatt, L. J., & De Zumeta, J. U. (1977). Malaria eradication in portugal. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 71(3), 232–240. [http://doi.org/10.1016/0035-9203\(77\)90014-1](http://doi.org/10.1016/0035-9203(77)90014-1)
- Calleri, G. (2014). Malaria prophylaxis and guidelines. *Infection*, 42(5), 913–916. <http://doi.org/10.1007/s15010-014-0658-5>
- Camargo-Ayala, P. A., Cubides, J. R., Niño, C. H., Camargo, M., Rodríguez-Celis, C. A., Quíñones, T., ... Patarroyo, M. A. (2016). High plasmodium malariae prevalence in an endemic area of the colombian amazon region. *PLoS ONE*, 11(7), 1–17. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0159968>
- Cambournac, F. J. C. (1947). *Perspectivas Actuais da Luta Anti-Sezonática Em Portugal* (Imprensa Lucas & C<sup>a</sup>). Lisboa.
- Castro, L., Cardoso, A. N. A. I., Queirós, L., & Gonçalves, G. (2003). Malária na Região Norte de Portugal ( 1993- 2002 ). *Acta Méd Port* 2004; 17: 291-298
- Centre for Disease Control. (2015). CDC - Malaria - About Malaria - Biology - Mosquitoes - Anopheles Mosquitoes. Disponível em: <http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/mosquitoes/>
- Ch'ng, J.-H., Moll, K., Quintana, M. del P., Chan, S. C. L., Masters, E., Moles, E., ... Wahlgren, M. (2016). Rosette-Disrupting Effect of an Anti-Plasmodial Compound for the Potential Treatment of Plasmodium falciparum Malaria Complications. *Scientific Reports*, 6(February), 29317. <http://doi.org/10.1038/srep29317>
- Chen, E., Salinas, N. D., Ntumngia, F. B., Adams, J. H., & Tolia, N. H. (2015). Structural

Analysis of the Synthetic Duffy Binding Protein (DBP) Antigen DEKnull Relevant for Plasmodium vivax Malaria Vaccine Design. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(3), 1–15. <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003644>

Chu, C. S., & White, N. J. (2016). Management of relapsing Plasmodium vivax malaria. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 7210(August). <http://doi.org/10.1080/14787210.2016.1220304>

Cibulskis, R. E., Alonso, P., Aponte, J., Aregawi, M., Barrette, A., Bergeron, L., ... Williams, R. (2016). Malaria: Global progress 2000 – 2015 and future challenges. *Infectious Diseases of Poverty*, 5(1), 61. <http://doi.org/10.1186/s40249-016-0151-8>

Collins, W. E., & Jeffery, G. M. (2005). Plasmodium ovale: Parasite and Disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(3), 570. <http://doi.org/10.1128/CMR.18.3.570>

Corey, V. C., Lukens, A. K., Istvan, E. S., Lee, M. C. S., Franco, V., Magistrado, P., ... Winzeler, E. A. (2016). A broad analysis of resistance development in the malaria parasite. *Nature Communications*, 7(May), 11901. <http://doi.org/10.1038/ncomms11901>

Crompton, P. D., Moebius, J., Waisberg, M., Garver, L. S., Miller, L. H., Barillas, C., ... Pierce, S. K. (2014). Malaria immunity in man and mosquito: insights into unsolved mysteries of a deadly infectious disease. *Annu Rev Immunol.*, 32(1), 157–187. <http://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120220.Malaria>

Da Silva, V. B., Sousa, M. A., Kuniyoshi, I. C., Aurélio, F. S., Sampaio, A. L. L., & De Oliveira, C. A. C. P. (2015). Risk of hearing alterations in newborns of mothers treated for malaria. *International Tinnitus Journal*, 19(2), 20–25. <http://doi.org/10.5935/0946-5448.20150004>

Demissie, Y., & Ketema, T. (2016). Complicated malaria symptoms associated with Plasmodium vivax among patients visiting health facilities in Mendi town , Northwest Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, 1–8. <http://doi.org/10.1186/s12879-016-1780-z>

DGS. (2012). Malária, 1049.

Diallo, M. A., Badiane, A. S., Diongue, K., Deme, A., Lucchi, N. W., Gaye, M., ... Ndiaye, D. (2016). Non-falciparum malaria in Dakar: a confirmed case of Plasmodium ovale wallikeri infection. *Malaria Journal*, 15(1), 429. <http://doi.org/10.1186/s12936-016-1485-1>

Dongare, H. C., & Khatib, K. I. (2016). Exchange Transfusion in Severe Falciparum Malaria. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 10(2), OD05-6. <http://doi.org/10.7860/JCDR/2016/16341.7190>

Dorkenoo, A. M., Yehadji, D., Agbo, Y. M., Layibo, Y., Agbeko, F., Adjeloh, P., ... Tulloch, J. (2016). Therapeutic efficacy trial of artemisinin-based combination therapy for the treatment of uncomplicated malaria and investigation of mutations in k13 propeller domain in Togo, 2012–2013. *Malaria Journal*, 15(1), 331. <http://doi.org/10.1186/s12936-016-1381-8>

Duque, V., Seixas, D., Ventura, C., da Cunha, S., & Meliço-Silvestre, A. (2012). Plasmodium falciparum malaria, bilateral sixth cranial nerve palsy and delayed cerebellar ataxia. *Journal of Infection in Developing Countries*, 6(3), 290–294. <http://doi.org/10.3855/jidc.2177>

Echeverry, D. F., Deason, N. A., Davidson, J., Makuru, V., Xiao, H., Niedbalski, J., ... Lobo, N. F. (2016). Human malaria diagnosis using a single-step direct-PCR based on the Plasmodium cytochrome oxidase III gene. *Malaria Journal*, 15(1), 128. <http://doi.org/10.1186/s12936-016-1185-x>

Fonseca, A. G., Dias, S. S., Baptista, J. L., & Torgal, J. (2014a). Imported Malaria in Portugal 2000–2013;2009: A Role for Hospital Statistics for Better Estimates and Surveillance. *Malaria Research and Treatment*, 2014, e373029. <http://doi.org/10.1155/2014/373029>

Fonseca, A. G., Dias, S. S., Baptista, J. L., & Torgal, J. (2014b). The burden of imported malaria in Portugal 2003 to 2012. *Journal of Travel Medicine*, 21(5), 354–356. <http://doi.org/10.1111/jtm.12141>

Fonseca, A. G., Simões Dias, S., Baptista, J. L., & Torgal, J. (2016). Surveillance of imported hospital requiring malaria in Portugal: can it be improved? *The European Journal of Public Health*, ckw052. <http://doi.org/10.1093/eurpub/ckw052>

Gbotosho, G. O., & Akinola, O. (2015). A localised threat to an excellent antimalarial drug. *The Lancet Infectious Diseases*, 15(6), 623–624. [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)70100-3](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)70100-3)

Geleta, G., & Ketema, T. (2016). Severe Malaria Associated with Plasmodium falciparum and P. vivax among Children in Pawe Hospital, Northwest Ethiopia. *Malaria Research*

*and Treatment*, 2016, 1–7. <http://doi.org/10.1155/2016/1240962>

Gething, P. W., Patil, A. P., Smith, D. L., Guerra, C. a., Elyazar, I. R. F., Johnston, G. L., ... Hay, S. I. (2011). A new world malaria map: Plasmodium falciparum endemicity in 2010. *Malaria Journal*, 10(1), 378. <http://doi.org/10.1186/1475-2875-10-378>

Gomes, P. S., Bhardwaj, J., Rivera-Correa, J., Freire-De-Lima, C. G., & Morrot, A. (2016). Immune Escape Strategies of Malaria Parasites. *Frontiers in Microbiology*, 7(October). <http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01617>

Gupta, S. (2015). Mastering malaria: what helps and what hurts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(10), 2925–6. <http://doi.org/10.1073/pnas.1501786112>

Hahn, W. O., & Pottinger, P. S. (2016). Malaria in the Traveler: How to Manage Before Departure and Evaluate Upon Return. *Medical Clinics of North America*, 100(2), 289–302. <http://doi.org/10.1016/j.mcna.2015.09.008>

Hänscheid, T., Melo-Cristino, J., & Pinto, B. G. (2001). Automated detection of malaria pigment in white blood cells for the diagnosis of malaria in Portugal. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 64(5), 290–292.

Hill, J., Kayentao, K., Achieng, F., Diarra, S., Dellicour, S., Diawara, S. I., ... Webster, J. (2015). Access and use of interventions to prevent and treat malaria among pregnant women in Kenya and Mali: A qualitative study. *PLoS ONE*, 10(3), 1–23. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0119848>

Hill, R. B. (1938). *Método de Profilaxia Anti-Sezonática em Portugal* (Imprensa Lucas & C<sup>a</sup>). Lisboa.

J.-Y., S., J.-M., L., M.-L., B.-B., L., P., I., D., Siriez, J.-Y., ... Denjoy, I. (2012). Effect of halofantrine on QT interval in children. *Pathogens and Global Health*, 106(2), 124–125. <http://doi.org/10.1179/2047773212Y.0000000007>

Jespersen, J. S., Wang, C. W., Mkumbaye, S. I., Minja, D. T., Petersen, B., Turner, L., ... Lavstsen, T. (2016). Plasmodium falciparum var genes expressed in children with severe malaria encode CIDRalpha1 domains. *EMBO Molecular Medicine*, 8(8), 839–850. <http://doi.org/10.15252/emmm.201606188>

Kamya, M. R., Arinaitwe, E., Wanzira, H., Katureebe, A., Barusya, C., Kigozi, S. P., ...

- Dorsey, G. (2015). Malaria transmission, infection, and disease at three sites with varied transmission intensity in Uganda: Implications for malaria control. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 92(5), 903–912. <http://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0312>
- Karunajeewa, H. A., & Mueller, I. (2016). How important is gametocyte clearance after malaria therapy ? *BMC Medicine*, 1–4. <http://doi.org/10.1186/s12916-016-0641-3>
- Kasetsirikul, S., Buranapong, J., Srituravanich, W., Kaewthamasorn, M., Pimpin, A., Gething, P., ... Jensen, P. (2016). The development of malaria diagnostic techniques: a review of the approaches with focus on dielectrophoretic and magnetophoretic methods. *Malaria Journal*, 15(1), 358. <http://doi.org/10.1186/s12936-016-1400-9>
- Keitany, G. J., Vignali, M., & Wang, R. (2014). Live attenuated pre-erythrocytic malaria vaccines. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 10(10), 2903–2909. <http://doi.org/10.4161/21645515.2014.972764>
- Kenea, O., Balkew, M., Tekie, H., Gebre-Michael, T., Deressa, W., Loha, E., ... Overgaard, H. J. (2016). Human-biting activities of Anopheles species in south-central Ethiopia. *Parasites & Vectors*, 9(1), 527. <http://doi.org/10.1186/s13071-016-1813-x>
- Klein, S. L., Shann, F., Moss, W. J., Benn, C. S., & Aaby, P. (2016). RTS,S Malaria Vaccine and Increased Mortality in Girls. *mBio*, 7(2), e00514-16-. <http://doi.org/10.1128/mBio.00514-16>
- Kremsner, P. G., Adegnik, A. A., Hounkpatin, A. B., Zinsou, J. F., Taylor, T. E., Chimalizeni, Y., ... Krishna, S. (2016). Intramuscular Artesunate for Severe Malaria in African Children: A Multicenter Randomized Controlled Trial. *PLoS Medicine*, 13(1), 1–22. <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001938>
- Langford, S., Douglas, N. M., Lampah, D. A., Simpson, J. A., Kenangalem, E., Sugiarto, P., ... Price, R. N. (2015). Plasmodium malariae Infection Associated with a High Burden of Anemia: A Hospital-Based Surveillance Study. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(12), 1–16. <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004195>
- Lathwal, S., & Sikes, H. D. (2016). Assessment of colorimetric amplification methods in a paper-based immunoassay for diagnosis of malaria. *Lab Chip*, 16(8), 1374–1382. <http://doi.org/10.1039/C6LC00058D>
- Leder, K., & Chen, L. H. (2016). Global malaria importations. *The Lancet. Infectious*

*Diseases*, 3099(16), 2–3. [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30404-2](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30404-2)

Maitland, K. (2015). Management of severe paediatric malaria in resource-limited settings. *BMC Medicine*, 13(1), 42. <http://doi.org/10.1186/s12916-014-0263-6>

Malcom, & Macgregor. (1927). *Mosquito Surveys* (Bailliére,). London: Wellcome Bureau of Scientific Research.

Marcisin, S. R., Reichard, G., & Pybus, B. S. (2016). Primaquine pharmacology in the context of CYP 2D6 pharmacogenomics: Current state of the art. *Pharmacology and Therapeutics*, 161, 1–10. <http://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.03.011>

Menéndez, C., Ferenchick, E., Roman, E., Bardají, A., & Mangiaterra, V. (2015). Malaria in pregnancy: Challenges for control and the need for urgent action. *The Lancet Global Health*, 3(8), e433–e434. [http://doi.org/10.1016/S2214-109X\(15\)00041-8](http://doi.org/10.1016/S2214-109X(15)00041-8)

Mischlinger, J., Agnandji, S. T., & Ramharter, M. (2016). Single dose treatment of malaria - current status and perspectives. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 7210(June). <http://doi.org/10.1080/14787210.2016.1192462>

Miura, K. (2016). Progress and prospects for blood-stage malaria vaccines. *Expert Review of Vaccines*, 15(6), 765–81. <http://doi.org/10.1586/14760584.2016.1141680>

Mohamed, B., Boushab, Fall-Malick, F.-Z., Savadogo, M., & Basco, L. K. (2016). Acute kidney injury in a shepherd with severe malaria: a case report, 249–251. <http://doi.org/10.2147/IJNRD.S116377>

Moore, B. R., Salman, S., & Davis, T. M. E. (2016). Treatment regimens for pregnant women with falciparum malaria. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 7210(June), 1–14. <http://doi.org/10.1080/14787210.2016.1202758>

Mukherjee, A., & Sadhukhan, G. C. (2016). Anti-malarial Drug Design by Targeting Apicoplasts: New Perspectives. *Journal of Pharmacopuncture*, 19(1), 7–15. <http://doi.org/10.3831/KPI.2016.19.001>

Murdock, C. C., Sternberg, E. D., & Thomas, M. B. (2016). Malaria transmission potential could be reduced with current and future climate change. *Scientific Reports*, 6(November 2015), 27771. <http://doi.org/10.1038/srep27771>

Nacher, M. (2005). Charming the mosquito: Do malaria symptoms increase the

attractiveness of the host for the vector? *Medical Hypotheses*, 64(4), 788–791. <http://doi.org/10.1016/j.mehy.2004.08.030>

Nankabirwa, J., Brooker, S. J., Clarke, S. E., Fernando, D., Gitonga, C. W., Schellenberg, D., & Greenwood, B. (2014). Malaria in school-age children in Africa: An increasingly important challenge. *Tropical Medicine and International Health*, 19(11), 1294–1309. <http://doi.org/10.1111/tmi.12374>

Nelson, R. (2016). Malaria during pregnancy and risk of Burkitt's lymphoma. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(11), 1232–1233. [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30421-2](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30421-2)

Neno, M., Marques, T., Paulo, S., & Santos, C. (2015). Managing Severe Malaria in an Intensive Care Unit Contraindications and Complications of Treatment With Quinine. *Intensive Care Medicine Experimental*, 3(Suppl 1), A350. <http://doi.org/10.1186/2197-425X-3-S1-A350>

Oguike, M. C., Betson, M., Burke, M., Nolder, D., Stothard, J. R., Kleinschmidt, I., ... Sutherland, C. J. (2011). Plasmodium ovale curtisi and Plasmodium ovale wallikeri circulate simultaneously in African communities. *International Journal for Parasitology*, 41(6), 677–683. <http://doi.org/10.1016/j.ijpara.2011.01.004>

Olotu, A., Fegan, G., Wambua, J., Nyangweso, G., Leach, A., Lievens, M., ... Bejon, P. (2016). Seven-Year Efficacy of RTS,S/AS01 Malaria Vaccine among Young African Children. *New England Journal of Medicine*, 374(26), 2519–2529. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1515257>

Pereira, N. R., Sarmiento, A., & Santos, L. (2015). Simultaneous diagnosis of severe imported Plasmodium falciparum malaria and HIV: report of three cases. *Malaria Journal*, 14, 266. <http://doi.org/10.1186/s12936-015-0780-6>

Rajahram, G. S., Barber, B. E., William, T., Grigg, M. J., Menon, J., Yeo, T. W., & Anstey, N. M. (2016). Falling Plasmodium knowlesi Malaria Death Rate among Adults despite Rising Incidence, Sabah, Malaysia, 2010-2014. *Emerging Infectious Diseases*, 22(1), 2010–2014. <http://doi.org/10.3201/eid2201.151305>

Rayner, J. C. (2015). Plasmodium malariae Malaria: From Monkey to Man? *EBioMedicine*, 2(9), 1023–1024. <http://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.08.035>

Renar, K. S., Iskra, J., & Križaj, I. (2016). Understanding malarial toxins. *Toxicon*.

<http://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.06.017>

Rossati, A., Bargiacchi, O., Kroumova, V., Zaramella, M., Caputo, A., & Garavelli, P. L. (2016). Climate, environment and transmission of malaria. *Infezioni in Medicina*, 24(2), 93–104.

Sande, S., Zimba, M., Chinwada, P., Masendu, H. T., Mberikunshe, J., & Makuwaza, A. (2016). A review of new challenges and prospects for malaria elimination in Mutare and Mutasa Districts, Zimbabwe. *Malaria Journal*, 15(1), 360. <http://doi.org/10.1186/s12936-016-1415-2>

Setiadi, W., Sudoyo, H., Trimarsanto, H., Sihite, B. A., Saragih, R. J., Juliawaty, R., ... Syafruddin, D. (2016). A zoonotic human infection with simian malaria, *Plasmodium knowlesi*, in Central Kalimantan, Indonesia. *Malaria Journal*, 15(September 2014), 218. <http://doi.org/10.1186/s12936-016-1272-z>

Sharma, S., Chandra Aggarwal, K., Deswal, S., Raut, D., Roy, N., & Kapoor, R. (2013). The unusual presentation of a usual organism - The changing spectrum of the clinical manifestations of *plasmodium vivax* malaria in children: A retrospective study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(9), 1964–1967. <http://doi.org/10.7860/JCDR/2013/5633.3370>

Shen, Y., Wang, J., Liu, X., Liang, J., Huang, Y., Liu, Z., ... Li, Y. (2015). Blockade of *Plasmodium falciparum* erythrocyte invasion: New assessment of Anti-*Plasmodium falciparum* reticulocyte binding protein homolog 5 antibodies. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 9(4), 1357–1362. <http://doi.org/10.3892/etm.2015.2237>

Singh, B., & Daneshvar, C. (2010). *Plasmodium knowlesi* malaria in Malaysia. *The Medical Journal of Malaysia*, 65(3), 166–172.

Squire, D. S., Asmah, R. H., Brown, C. A., Adjei, D. N., Obeng-Nkrumah, N., & Ayeh-Kumi, P. F. (2016). Effect of *Plasmodium falciparum* malaria parasites on haematological parameters in Ghanaian children. *Journal of Parasitic Diseases*, 40(2), 303–311. <http://doi.org/10.1007/s12639-014-0501-z>

Srinivasan, V., Mohamed, M., Zakaria, R., & Ahmad, A. H. (2012). Malaria, anti malarial drugs and the role of melatonin. *Infectious Disorders Drug Targets*, 12(5), 371–9. <http://doi.org/10.2174/187152612804142198>



Sundararajan, R., Mwanga-Amumpaire, J., Adrama, H., Tumuhairwe, J., Mbabazi, S., Mworoz, K., ... Ware, N. C. (2015). Sociocultural and structural factors contributing to delays in treatment for children with severe malaria: A qualitative study in Southwestern Uganda. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 92(5), 933–940. <http://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0784>

Sutherland, C. J. (2016). Persistent Parasitism: The Adaptive Biology of Malariae and Ovale Malaria. *Trends in Parasitology*, xx, 1–12. <http://doi.org/10.1016/j.pt.2016.07.001>

Tarning, J. (2016). Treatment of Malaria in Pregnancy. *New England Journal of Medicine*, 374(10), 981–982. <http://doi.org/10.1056/NEJMe1601193>

Tchaparian, E., Sambol, N. C., Arinaitwe, E., McCormack, S. A., Bigira, V., Wanzira, H., ... Parikh, S. (2016). Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of lumefantrine in young Ugandan children treated with artemether-lumefantrine for uncomplicated malaria. *The Journal of Infectious Diseases*, 214, 1243–1251. <http://doi.org/10.1093/infdis/jiw338>

Terveer, E. M., Brien, E. A. T., Erken, M. A. A., & van Lieshout, L. (2016). Late manifestation of a mixed Plasmodium falciparum and Plasmodium malariae infection in a non-immune toddler after traveling to Chad. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 9–10. <http://doi.org/10.1016/j.tmaid.2016.05.009>

Tran, T. M., Portugal, S., Draper, S. J., & Crompton, P. D. (2015). Malaria Vaccines: Moving Forward After Encouraging First Steps. *Current Tropical Medicine Reports*, 2(1), 1–3. <http://doi.org/10.1007/s40475-015-0041-3>

Tusting, L. S., Willey, B., & Lines, J. (2016). Building malaria out: improving health in the home. *Malaria Journal*, 15(1), 320. <http://doi.org/10.1186/s12936-016-1349-8>

Ursing, J., Rombo, L., Rodrigues, A., & Kofoed, P.-E. (2016). Artemether-Lumefantrine versus Dihydroartemisinin-Piperaquine for Treatment of Uncomplicated Plasmodium falciparum Malaria in Children Aged Less than 15 Years in Guinea-Bissau – An Open-Label Non-Inferiority Randomised Clinical Trial. *Plos One*, 11(9), e0161495. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0161495>

Van Braeckel-Budimir, N., Kurup, S. P., & Harty, J. T. (2016). Regulatory issues in immunity to liver and blood-stage malaria. *Current Opinion in Immunology*, 42, 91–97. <http://doi.org/10.1016/j.coi.2016.06.008>

- Venkatesh, A., Patel, S. K., Ray, S., Shastri, J., Chatterjee, G., Kochar, S. K., ... Srivastava, S. (2016). Proteomics of Plasmodium vivax malaria: New insights, progress and potential. *Expert Review of Proteomics*, 9450(July). <http://doi.org/10.1080/14789450.2016.1210515>
- Walk, J., Schats, R., Langenberg, M. C. C., Reuling, I. J., Teelen, K., Roestenberg, M., ... Sauerwein, R. W. (2016). Diagnosis and treatment based on quantitative PCR after controlled human malaria infection. *Malaria Journal*, 15(1), 398. <http://doi.org/10.1186/s12936-016-1434-z>
- Wassmer, S. C., & Grau, G. E. R. (2016). Severe malaria: what's new on the pathogenesis front? *International Journal for Parasitology*, (September). <http://doi.org/10.1016/j.ijpara.2016.08.002>
- White, N. J. (2016). Can new treatment developments combat resistance in malaria? *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 6566(May), 14656566.2016.1187134. <http://doi.org/10.1080/14656566.2016.1187134>
- WHO. (2015). *WHO | Malaria Terminology. World Health Organisation*. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>
- World Health Organization. (2015). *Guidelines for the Treatment of Malaria. Third Edition*. pp 1-317
- World Health Organization. (2016). Framework for implementing the Global Technical Strategy for Malaria 2016–2030 in the African Region. *Regional Committee for Africa, AFR/RC66/I*, 1–12.
- Yakasai, A. M., Hamza, M., Dalhat, M. M., Bello, M., Gadanya, M. A., Yaqub, Z. M., ... Hassan-Hanga, F. (2015). Adherence to Artemisinin-Based Combination Therapy for the Treatment of Uncomplicated Malaria: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Tropical Medicine*, 2015, 189232. <http://doi.org/10.1155/2015/189232>
- Yamamoto, D. S., Sumitani, M., Kasashima, K., Sezutsu, H., & Matsuoka, H. (2016). Inhibition of Malaria Infection in Transgenic Anopheline Mosquitoes Lacking Salivary Gland Cells. <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005872>
- Yatsushiro, S., Yamamoto, T., Yamamura, S., Abe, K., Obana, E., Nogami, T., ... Kataoka, M. (2016). Application of a cell microarray chip system for accurate, highly

*Malária: abordagem da terapêutica atual e de futuro. Prevalência em Portugal: análise de casos.*

sensitive, and rapid diagnosis for malaria in Uganda. *Scientific Reports*, 6(October 2015), 30136. <http://doi.org/10.1038/srep30136>